



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS  
CÂMPUS CENTRAL-SEDE: ANÁPOLIS DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS -  
HENRIQUE SANTILLO-CET  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA  
DOUTORADO EM ASSOCIAÇÃO UFGD/UFCat/UEG  
LILIAN TATIANE FERREIRA DE MELO CAMARGO

**GLUCOSAMINA: CARACTERIZAÇÃO DAS LIGAÇÕES DE HIDROGÊNIO  
FORMADAS NA SOLVATAÇÃO AQUOSA E DAS INTERAÇÕES OBTIDAS DA  
COMPLEXAÇÃO COM OS ÍONS CÁLCIO E COBALTO II**

ANÁPOLIS – GO  
2021

LILIAN TATIANE FERREIRA DE MELO CAMARGO

**GLUCOSAMINA: CARACTERIZAÇÃO DAS LIGAÇÕES DE HIDROGÊNIO  
FORMADAS NA SOLVATAÇÃO AQUOSA E DAS INTERAÇÕES OBTIDAS DA  
COMPLEXAÇÃO COM OS ÍONS CÁLCIO E COBALTO II**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, Doutorado em Associação UFGD/UFCat/UEG, como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Química.

Área de concentração CNPq: Química  
Orientador: Prof. Dr. Ademir João Camargo

ANÁPOLIS – GO

2021



## TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO DE TESES E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL (BDTD)

Na qualidade de titular dos direitos de autor e autora, autorizo a Universidade Estadual de Goiás (UEG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UEG), regulamentada pela Resolução, **CsA n.1087/2019** sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

Estando ciente que o conteúdo disponibilizado é de inteira responsabilidade do autor / autora.

### Dados do autor (a)

Nome Completo: Lilian Tatiane Ferreira de Melo Camargo  
E-mail: lilianthaty@yahoo.com.br

### Dados do trabalho

Título:

**GLUCOSAMINA: Caracterização das Ligações de Hidrogênio Formadas na Solvatação Aquosa e das Interações Obtidas da Complexação com os Íons Cálcio e Cobalto II**

### Tipo

(  ) Tese    (    ) Dissertação

Curso/Programa: Doutorado em Química

### Concorda com a liberação documento

[  ] SIM

[    ] NÃO

### Assinalar justificativa para o caso de impedimento e não liberação do documento:

- [    ] Solicitação de registro de patente;
- [    ] Submissão de artigo em revista científica;
- [    ] Publicação como capítulo de livro;
- [    ] Publicação da dissertação/tese em livro.

- ❖ Em caso de não autorização, o período de embargo será de **até um ano** a partir da data de defesa, caso haja necessidade de exceder o prazo de um ano, deverá ser apresentado formulário de solicitação para extensão de prazo para publicação devidamente justificado, junto à coordenação do curso.

Anápolis,            27/09/2021  
Local                    Data

Assinatura do autor (a)

Assinatura do orientador (a)

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UEG  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

CC172      Camargo, Lilian Tatiane Ferreira de Melo  
g            GLUCOSAMINA: CARACTERIZAÇÃO DAS LIGAÇÕES DE  
              HIDROGÊNIO FORMADAS NA SOLVATAÇÃO AQUOSA E DAS  
              INTERAÇÕES OBTIDAS DA COMPLEXAÇÃO COM OS ÍONS CÁLCIO E  
              COBALTO II / Lilian Tatiane Ferreira de Melo Camargo;  
              orientador Ademir João Camargo. -- Anápolis - GO, 2021.  
              144 p.

              Tese (Doutorado - Programa de Pós-Graduação  
              Doutorado em Química) -- Câmpus Central - Sede:  
              Anápolis - CET, Universidade Estadual de Goiás, 2021.

              1. Glucosamina. 2. Metais. 3. DFT. 4. Dinâmica  
              Molecular de Car-Parrinello. I. Camargo, Ademir João,  
              orient. II. Título.



ESTADO DE GOIÁS  
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS - UEG  
COORDENAÇÃO STRICTO SENSU QUÍMICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA  
DOUTORADO EM ASSOCIAÇÃO UFGD/UFCat/UEG  
ATA DE DEFESA DE TESE

Ata nº 03 da sessão de defesa de tese de doutorado apresentada por **Liliane Tatiane Ferreira de Melo Camargo**, discente do Programa de Pós-graduação em Química, Doutorado em Associação UFGD/UFCat/UEG.

Aos três dias do mês de setembro de dois mil e vinte e um, às 14 horas, horário de Brasília, via vídeo conferência, realizou-se a sessão pública de defesa de tese de doutorado intitulada "Glucosamina: caracterização das ligações de hidrogênio formadas na solvatação aquosa e das interações obtidas da complexação com os íons cálcio e cobalto II" apresentada pela doutoranda **Liliane Tatiane Ferreira de Melo Camargo** à Banca Examinadora constituída pelos membros: **Prof. Dr. Ademir João Camargo** (UEG, presidente e orientador), **Prof. Dr. Luciano Ribeiro** (UEG), **Prof. Dr. Renato Rosseto** (UEG), **Profa. Dra. Lauriane Gomes Santin** (FACEG), **Prof. Dr. João Batista Lopes Martins** (UnB). Iniciados os trabalhos, a presidência deu a conhecer à candidata e aos integrantes da Banca as normas a serem observadas na apresentação da Tese. Após a apresentação da candidata, os componentes da Banca Examinadora fizeram suas arguições. Terminada a Defesa, a Banca Examinadora, em sessão secreta, passou aos trabalhos de julgamento, tendo sido a candidata considerada aprovada, fazendo jus ao título de **Doutora em Química**. Proclamados os resultados pelo **Prof. Dr. Ademir João Camargo**, Presidente da Banca Examinadora, foram encerrados os trabalhos e, para constar, lavrou-se a presente ata em 03 de setembro de 2021, que é assinada pelos Membros da Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **João Batista Lopes Martins**, Usuário Externo, em 06/09/2021, às 15:32, conforme art. 2º, § 2º, III, "b", da Lei 17.039/2010 e art. 3ºB, I, do Decreto nº 8.808/2016.



Documento assinado eletronicamente por **RENATO ROSSETO**, Docente de Ensino Superior, em 06/09/2021, às 15:36, conforme art. 2º, § 2º, III, "b", da Lei 17.039/2010 e art. 3ºB, I, do Decreto nº 8.808/2016.



Documento assinado eletronicamente por **Lauriane Gomes Santin Oliveira**, Usuário Externo, em 06/09/2021, às 15:46, conforme art. 2º, § 2º, III, "b", da Lei 17.039/2010 e art. 3ºB, I, do Decreto nº 8.808/2016.



Documento assinado eletronicamente por **ADEMIR JOAO CAMARGO**, Docente de Ensino Superior, em 07/09/2021, às 14:06, conforme art. 2º, § 2º, III, "b", da Lei 17.039/2010 e art. 3ºB, I, do Decreto nº 8.808/2016.

Documento assinado eletronicamente por **LUCIANO RIBEIRO**, Coordenador (a) de Curso, em 09/09/2021, às 10:17, conforme art. 2º, § 2º, III, "b", da Lei 17.039/2010 e art. 3ºB, I, do Decreto nº 8.808/2016.



A autenticidade do documento pode ser conferida no site  
[http://sei.go.gov.br/sei/controlador\\_externo.php?](http://sei.go.gov.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=1)  
[acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=1](http://sei.go.gov.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=1) informando o código verificador  
000023390914 e o código CRC D4CB89BE.

COORDENAÇÃO STRICTO SENSU QUÍMICA  
RODOVIA BR. 153 S/Nº, QUADRA ÁREA KM 99 - Bairro ZONA RURAL - ANAPOLIS - GO -  
CEP 75132-903 - (62)3328-1156.



Referência: Processo nº 202100020013074



SEI 000023390914

A Deus pela oportunidade a mim concedida.  
Aos meus filhos: Edward Gabriel de Melo Camargo e  
Kevin Arthur de Melo Camargo.

## AGRADECIMENTO

- Agradeço primeiramente a Deus, pois acredito que a realização deste trabalho é devida a Sua permissão. “Porque Dele, por Ele e para Ele são todas as coisas”.
- Agradeço à Universidade Estadual de Goiás e ao Instituto Federal de Goiás, pela oportunidade e apoio a mim concebidos.
- Agradeço a Função de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás pelos financiamentos.
- Meus sinceros agradecimentos ao professor Dr. Ademir João Camargo pela dedicação, paciência, competência, na orientação deste trabalho, sobretudo pelo ser humano que é.
- A todos os professores que fazem parte deste programa de pós-graduação, pelo incentivo.
- Aos amigos: Allane Catharina Carvalhaes Rodrigues, Nayara Dantas Coutinho, Gracielle Oliveira Cunha Sabbaga e Flávio Olimpio Shanches Neto pelo companheirismo, paciência, discussões, contribuições e incentivo incansável durante a realização deste trabalho, o que tornou esta jornada mais “leve”.
- Aos colegas do laboratório de Química Teórica e Estrutural de Anápolis: Valter Henrique Carvalho da Silva, Luciano Ribeiro, Priscila Gomes dos Santos, Yago Francisco Lopes e Marcos Vinícius Cardoso Souza Rezende pelo incentivo e contribuições.
- Meus sinceros agradecimentos a minha mãe: Marieta Conceição Ferreira de Melo e em especial ao meu pai, Amós de Melo (*in memoriam*), o qual sempre me chamou de doutora mesmo ainda não tendo adquirido o título. Infelizmente deste momento ele não pôde participar, restando somente as saudades e a minha sincera gratidão.
- Agradeço ao meu esposo Eduardo Francisco Camargo e aos nossos filhos: Edward Gabriel de Melo Camargo e Kevin Arthur de Melo Camargo, pelas renúncias necessárias neste período, pelo amor, carinho e compreensão.
- A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

## RESUMO

A glucosamina é um monossacarídeo com importantes propriedades farmacológicas, possuindo ações anti-inflamatórias, anticancerígenas, dentre outras. Além de ser a forma monomérica do biopolímero quitosana, que possui várias aplicações. Embora exista uma quantidade significativa de pesquisas experimentais sobre glucosamina mostrando seus efeitos ao combate à osteoartrite, aos microorganismos, melhorias cardiovasculares, neurológicas, dentre outras, estudos em nível molecular sobre suas interações/reações são escassos. Assim, este trabalho tem como objetivo a análise teórica dos efeitos da solvatação aquosa da glucosamina e a sua complexação com os íons cálcio e cobalto, usando a Dinâmica Molecular de Car-Parrinello, implementada no pacote do programa CPMD (versão 4.1). As interações foram caracterizadas usando a Teoria de Átomos em Moléculas e Análise do Orbital Natural de Ligação. Os resultados da solvatação mostraram formação de várias ligações de hidrogênio intra e intermoleculares. A transferência de um hidrogênio da molécula de água para o nitrogênio da glucosamina foi investigada usando a Metadinâmica, mostrando baixa barreira energética, sugerindo que a reação possa ocorrer à temperatura ambiente. Os resultados mostraram ainda que, ambos os metais formam complexos estáveis com a glucosamina na ausência e presença de água. Infere-se, portanto que o melhor entendimento microscópico da solvatação aquosa deve ser considerada ao projetar explicações sobre as atividades biológicas deste monossacarídeo. A eficiência da interação dos íons cálcio e cobalto com a glucosamina é interessante para aplicações farmacológicas e ambientais.

**Palavras-chave:** Glucosamina, Metais, DFT e Dinâmica Molecular de Car-Parrinello.

## ABSTRACT

Glucosamine is a monosaccharide with important pharmacological properties, having anti-inflammatory, anticancer, among others. In addition is the monomeric form of chitosan biopolymer, that also has several applications. Although there is a significant amount of experimental research on glucosamine showing its effects on combating osteoarthritis, microorganisms, cardiovascular improvements, necrologies, among others, molecular studies on their interactions/reactions are scarce. Thus, this work aimed to study, theoretically, the effects of aqueous solvation of glucosamine and its complexation with calcium and cobalt ions, using the Car-Parrinello Molecular Dynamics, implemented in the CPMD program package (version 4.1). The interactions were characterized using the Quantum theory of atoms in molecules Analysis of the Natural Bond Orbital. The results of the solvation showed formation of various intra and intermolecular hydrogen bonds. The transfer of one hydrogen from the water molecule to glucosamine nitrogen was investigated using. Metadynamics, showing low energy barrier, suggesting that the reaction can occur at room temperature. The results also showed that both metals form stable complexes with glucosamine in the absence and presence of water. It is therefore inferring that the best microscopic understanding of aqueous solvation should be considered when designing explanations about the biological activities of this monosaccharide. Moreover, the efficiency of calcium and cobalt ion sequestration by glucosamine is interesting for pharmacological and environmental applications.

**Keywords:** Glucosamine, Metals, DFT and Molecular Dynamics Car-Parrinello.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Representação da estrutura química da GlcN.....	18
<b>Figura 2</b> - Estrutura química da quitosana.....	21
<b>Figura 3</b> - Representação esquemática da geometria da complexação de metais com a GlcN já investigados (BHATIA; CARDELINO; RAVI, 2005; FATTAHI et al., 2008; GOMES; JORGE; GOMES, 2014; HASSAN et al., 2017; HASSAN; MURALEEDHARAN; ABDUL MUJEEB, 2015; JEREMIC' et al., 2018; TERREUX et al., 2006). A cor de cada esfera corresponde à cor do íon no retângulo do esquema. Íons com mais de uma cor são aqueles estudados em mais de um trabalho e com resultados divergentes. ....	27
<b>Figura 4</b> - Estrutura química do iodoanizol e do imidazol.....	30
<b>Figura 5</b> - Ligações de Hidrogênio formadas no intermediário da reação entre GlcN e o 2,3-epoxipropiltrimetil cloreto de amônio.....	31
<b>Figura 6</b> - Abertura da cadeia de GlcN em uma das etapas de condensação de GlcN em desoxi-frutosazina e frutosazina.....	31
<b>Figura 7</b> - Propagação reacional em função da variável coletiva.....	63
<b>Figura 8</b> - Configuração esquemática da distribuição das partículas de uma distância $r$ e $r + \Delta r$ em uma função de distribuição de pares.....	68
<b>Figura 9</b> - Representação da estrutura química da GlcN com a numeração adotada no texto.....	77
<b>Figura 10</b> - FDRP do sítio O(1) – H(w) da GlcN. A integral da área e as extremidades da primeira esfera de hidratação estão escritas em preto e vermelho, respectivamente.....	81
<b>Figura 11</b> - FDRP do sítio O(2) – H(w) da GlcN. A integral da área e as extremidades da primeira esfera de hidratação estão escritas em preto e vermelho, respectivamente.....	81
<b>Figura 12</b> - Interações intramoleculares da molécula de GlcN.....	82
<b>Figura 13</b> - FDRP do sítio O(3) – H(w) da GlcN. A integral da área e as extremidades da primeira esfera de hidratação estão escritas em preto e vermelho, respectivamente.....	83
<b>Figura 14</b> - FDRP do sítio H(21) – O(w) da GlcN. A integral da área e as extremidades da primeira esfera de hidratação estão escritas em preto e vermelho, respectivamente.....	84
<b>Figura 15</b> - FDRP do sítio O(4) – H(w) da GlcN. A integral da área e as extremidades da primeira esfera de hidratação estão escritas em preto e vermelho, respectivamente.....	84
<b>Figura 16</b> - FDRP do sítio O(5) – H(w) da GlcN. A integral da área e as extremidades da primeira esfera de hidratação estão escritas em preto e vermelho, respectivamente.....	85

- Figura 17** - FDRP do sítio H(25) – O(w) da GlcN. A integral da área e as extremidades da primeira esfera de hidratação estão escritas em preto e vermelho, respectivamente. 86
- Figura 18** - FDRP do sítio N(12) – H(w) da GlcN. A integral da área e as extremidades da primeira esfera de hidratação estão escritas em preto e vermelho, respectivamente. 87
- Figura 19** - Os gráficos apresentam o TMR e a frequência (N) em que os átomos de H(w) e O(w) de moléculas de água entraram e saíram da primeira esfera de hidratação em picossegundos. Apresentam ainda o número de moléculas de água coordenadas na primeira esfera de solvatação nos sítios: H(21), H(25), O(1), O(4) e N(12) da GlcN..... 90
- Figura 20** - Energia livre de Helmholtz em função da distância nos sítios que apresentaram interação intramolecular: H(20)--O(3), H(22)--O(2) e H(23)--O(5). ..... 93
- Figura 21** - Energia livre de Helmholtz em função da distância, nos sítios: a) H(21), b) H(25), c)O(1), d) O(4) e e) N(12) da GlcN com moléculas de água. As energias são dadas em kcal mol<sup>-1</sup>. O índice w representa átomo de molécula de água. Sendo que w1 referente ao segundo hidrogênio da mesma molécula de água e w' átomo de uma segunda molécula de água. .... 94
- Figura 22** - Gráfico da Função de Correlação de Velocidade da trajetória da GlcN em meio aquoso..... 95
- Figura 23** - Distância das interações O(3)-H(20) e O(5)-H(23) ao longo da trajetória. a) A, B e C representam os extremos das distâncias e a linha; b) a linha horizontal em vermelho indica a distância máxima de uma interação do tipo ligação de hidrogênio..... 96
- Figura 24** - Rótulo da estrutura de GlcN solvatada por 5 moléculas de água. W1, W2, W3 W4 e W5 representam as moléculas de água presentes na primeira esfera de hidratação da GlcN. .... 99
- Figura 25** - Esquema que mostra o processo de transferência do próton da molécula de água ao grupo amino da GlcN. Por uma questão de clareza, o esquema mostra apenas a molécula de água envolvida no processo de protonação. a) Configuração inicial (CI) b) complexo de vdW; c) Complexo ativado (C.A); d) Configuração final (CF). .... 101
- Figura 26** - Perfil da energia livre de Helmholtz (*F*) em função da variável coletiva  $s = d_{H(w)-O(w)} - d_{N(12)-H(w)}$  da simulação de metadinâmica. .... 102
- Figura 27** - Evolução temporal da DMCP de GlcN-Ca<sup>2+</sup>. Os parâmetros geométricos representam quatro diferentes configurações iniciais em quatro trajetórias diferentes:

trajetória 1 (T-1), trajetória 2 (T-2), trajetória 3 (T-3) e trajetória 4 (T-4). Em 29,12 ps, a distância de ligação corresponde a distância média da interação entre o tempo inicial de formação do complexo (equilíbrio da complexação) e o tempo final da simulação.....	104
<b>Figura 28</b> - Evolução temporal das distâncias de interação do cálcio e os sítios da GlcN na trajetória 1 (T-1), trajetória 2 (T-2), trajetória 3 (T-3) e trajetória 4 (T-4).....	105
<b>Figura 29</b> - Energia de Helmholtz das interações entre GlcN e $\text{Ca}^{2+}$ nas quatro trajetórias a) T-1, b) T-2, c) T-3 e d) T-4. ....	107
<b>Figura 30</b> - Parâmetros geométricos representados pela simulação de duas micro solvatações diferentes (M-1 e M-2). No esquema estão representadas as distâncias médias (unidade em Å) de interação entre o tempo inicial de formação do complexo e o tempo final da simulação.....	112
<b>Figura 31</b> - Evolução temporal da DMCP de $\text{GlcN\_Co}^{2+}$ . Os parâmetros geométricos representam quatro diferentes configurações iniciais em quatro trajetórias diferentes: trajetória 1 (T-1), trajetória 2 (T-2), trajetória 3 (T-3) e trajetória 4 (T-4). Em 40 ps a distância de ligação corresponde a distância média da interação entre o tempo inicial de formação do complexo (equilíbrio da complexação) e o tempo final da simulação.....	116
<b>Figura 32</b> - Evolução temporal das distâncias de interação do cobalto e os sítios da GlcN na trajetória 1 (T-1), trajetória 2 (T-2), trajetória 3 (T-3) e trajetória 4 (T-4).....	117
<b>Figura 33</b> - Energia livre de Helmholtz para as interações das quatro trajetórias (T-1, T-2, T-3 e T-4 ) de GlcN e o íon cobalto II. ....	118
<b>Figura 34</b> - Configurações do sistema $\text{GlcNCo}^{2+}\text{-H}_2\text{O}$ . Os parâmetros geométricos representam quatro diferentes configurações iniciais em quatro trajetórias diferentes (T-1, T-2, T-3 e T-4). No esquema, estão representadas as distâncias médias (unidade em Å) de interação entre o tempo inicial de formação do complexo e o tempo final da simulação. ....	122
<b>Figura 35</b> - Evolução temporal das distâncias de interação do cobalto e os sítios da GlcN em ambiente de solvatação aquosa, na a) trajetória 1 (T-1), b) trajetória 2 (T-2), c) trajetória 3 (T-3) e d) trajetória 4 (T-4). ....	123
<b>Figura 36</b> - Os gráficos mostram a energia livre de Helmholtz para as interações das quatro trajetórias de GlcN e o íon cobalto II em ambiente solvatado. ....	124

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Parâmetros geométricos médios da GlcN obtidos com os níveis de teoria DMCP, CCSD/6-311++G (d, p) e PBE/6-311++G(d, p). Os dados do raios X foram incluídos para a finalidade de comparação. O comprimento da ligação e os ângulos inter atômicos são dados em Angstroms (Å) e em graus (°), respectivamente.....78
- Tabela 2** - Parâmetros geométricos médios da GlcN isolada e solvatada obtidos da simulação de DMCP e as diferenças absolutas percentuais entre os dois sistemas. O comprimento da ligação e os ângulos internos são dados em Angstroms (Å) e em graus (°), respectivamente. ....80
- Tabela 3** - Valores correspondentes às distâncias mínimas e máximas, pico máximo e número médio de moléculas na primeira camada de solvatação. As distâncias mínimas e máximas e o pico máximo são dados em Angstroms (Å). ....87
- Tabela 4** - Valores médios das Distâncias (Å) e ângulos (°) das ligações de hidrogênio intra e intermolecular observadas na solvatação aquosa da GlcN. Os acrônimos w e w' indicam moléculas de água diferentes e H(w) e H(w1) indica hidrogênio da mesma molécula de água. ....92
- Tabela 5** - Parâmetros Topológicos (em ua) do ponto crítico das interações intramoleculares da GlcN usando frames das extremidades das ligações, não correlacionados, da simulação de DMCP, com o nível de teoria M06-2X/6-31G\*\*. Os parâmetros:  $\rho(r)$ ,  $G(r)$ ,  $V(r)$  e  $\nabla^2(r)$  estão em unidades atômicas / ua. A distância dada em Angstrom (Å). ....96
- Tabela 6** - Parâmetros topológicos da densidade do ponto crítico das interações intermoleculares calculadas com o nível de teoria M06-2X/6-311++G\*\*. Os parâmetros:  $\rho(r)$ ,  $G(r)$ ,  $V(r)$  and  $\nabla^2\rho(r)$  estão em unidades atômicas (ua). A distância é dada em Angstrom (Å). ....97
- Tabela 7** - Principais orbitais doadores e receptores e a energia de interação de segunda ordem  $E_{(2)}$ , em  $\text{kcal mol}^{-1}$ , das interações das moléculas de água e os sítios da GlcN, calculado em nível de teoria M06-2X/6-311++G\*\*.  $\text{RY}^*$  representa orbitais de Rydemberg antiligante. .... 100
- Tabela 8** - Parâmetros geométricos entre a GlcN e uma molécula de água nos pontos críticos da curva de energia livre Helmholtz (ver Figura 26). Os comprimentos de ligações são dados em Å, e os ângulos são dados em graus (°). CI representa configuração

inicial, vdW representa Van der Waals, C. A complexo ativado e CF referem-se à configuração final.....	102
<b>Tabela 9</b> - Energia em kcal mol <sup>-1</sup> do sistema GlcN_Ca <sup>2+</sup> , considerando carga +2 com multiplicidade 1 e 3. ....	103
<b>Tabela 10</b> - Distâncias (Å) e parâmetros topológicos da densidade de elétrons: $\rho(r)$ , $G(r)$ , $V(r)$ e $\nabla^2\rho(r)$ , em unidades atômicas (ua). Calculados no nível de teoria M06-2X/6-311G**.....	108
<b>Tabela 11</b> - Os orbitais doadores e aceitadores de elétrons e $E_{(2)}$ que representa a energia de interação de segunda ordem dos complexos: GlcN_Ca <sup>2+</sup> _T-1, GlcN_Ca <sup>2+</sup> _T-2, GlcN_Ca <sup>2+</sup> _T-3 e GlcN_Ca <sup>2+</sup> _T-4. Calculados no nível de teoria M06-2X/6-311G** e $E(2)$ em kcal mol <sup>-1</sup> .....	110
<b>Tabela 12</b> - Distância (Å) e parâmetros topológicos da densidade eletrônica calculada com nível de teoria M06-2X/6-311G**. Todos os parâmetros: $\rho(r)$ , $G(r)$ , $V(r)$ e $\nabla^2\rho(r)$ estão em unidades atômicas (ua). O índice w representa átomo de moléculas de água. ....	113
<b>Tabela 13</b> - Energias de interação de segunda ordem mais importantes (> 7 kcal mol <sup>-1</sup> ), $E(2)$ (kcal mol <sup>-1</sup> ), entre orbitais doadores e orbitais aceitadores para cada complexo entre GlcN e íon cálcio no ambiente de micro solvatação. ....	114
<b>Tabela 14</b> - Energia do sistema GlcN_Co <sup>2+</sup> considerando multiplicidade 2 e 4, nos níveis M062X/6-311++G(d,p) e MP2/cc-pvdz. Energia dada em kcal mol <sup>-1</sup> .....	115
<b>Tabela 15</b> - Distâncias (Å) e parâmetros topológicos da densidade de elétrons calculados no nível de teoria M062X/6-311G** para GlcN_Co <sup>2+</sup> . Todos os parâmetros $\rho(r)$ , $G(r)$ , $V(r)$ e $\nabla^2\rho(r)$ estão em unidades atômicas (ua). ....	120
<b>Tabela 16</b> - Distâncias (Å) e parâmetros topológicos da densidade de elétrons calculados no nível de teoria M062X/6-311G** para GlcN_Co <sup>2+</sup> _H <sub>2</sub> O. Todos os parâmetros $\rho(r)$ , $G(r)$ , $V(r)$ e $\nabla^2\rho(r)$ estão em unidades atômicas (ua). ....	125

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS</b> .....	18
<b>1.1</b>	<b>Glucosamina</b> .....	18
1.1.1	Ação anti-inflamatória da GlcN .....	19
1.1.2	Ação anticancerígena da GlcN .....	19
1.1.3	Ação dermatológica da GlcN .....	20
<b>1.2</b>	<b>GlcN: O Monômero da Quitosana</b> .....	20
<b>1.3</b>	<b>GlcN: Complexação com Metais</b> .....	23
1.3.1	Cálcio.....	23
1.3.2	Cobalto .....	24
<b>1.4</b>	<b>Estudos Teóricos da GlcN</b> .....	25
1.4.1	Complexação de metais com a GlcN usando a DFT.....	26
1.4.2	Análise de mecanismos envolvendo a estrutura da GlcN usando a DFT.....	30
1.4.3	Adsorção da GlcN em superfícies usando DFT .....	32
1.4.4	Complexação de metais com o dímero da quitosana .....	34
1.4.5	Simulações da GlcN usando Monte Carlo .....	34
1.4.6	Simulações de dinâmica molecular da quitosana e GlcN.....	35
<b>2</b>	<b>CAPÍTULO 2 – FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	38
<b>2.1</b>	<b>Introdução</b> .....	38
<b>2.2</b>	<b>Aproximação de Born-Oppenheimer</b> .....	39
<b>2.3</b>	<b>Aproximação de Hartree-Fock</b> .....	40
2.3.1	Equações de Hartree-Fock-Roothan.....	42
<b>2.4</b>	<b>DFT</b> .....	42
2.4.1	Modelo de Thomas-Fermi .....	43
2.4.2	Os Teoremas de Hohenberg e Kohn.....	44
2.4.3	O Método de Kohn-Sham.....	48
2.4.4	Funcionais de Troca e Correlação .....	51
2.4.4.1	Aproximação Generalizada – Gradiente .....	53
<b>2.5</b>	<b>Dinâmica Molecular</b> .....	55
2.5.1	Dinâmica Molecular de Erhenfest (DME) .....	56
2.5.2	Dinâmica Molecular de Born – Oppenheimer (BOMD).....	56
2.5.3	DMCP.....	57
2.5.3.1	Algoritmo de Verlet e Velocity Verlet .....	59

<b>2.6</b>	<b>Metadinâmica</b> .....	62
<b>2.7</b>	<b>Adiabaticidade do Sistema</b> .....	63
<b>2.8</b>	<b>Controle de Temperatura</b> .....	65
<b>2.9</b>	<b>Funções de Bases</b> .....	65
<b>2.10</b>	<b>Pseudopotencial</b> .....	66
<b>2.11</b>	<b>Propriedades Estruturais e Eletrônicas</b> .....	67
2.11.1	A FDRP .....	67
2.11.2	O TMR .....	69
2.11.3	Ligação de Hidrogênio .....	69
2.11.4	Energia Livre de Helmholtz .....	70
2.11.5	Função de Correlação da Velocidade .....	70
2.11.6	Análise de QTAIM.....	71
2.11.7	Análise do NBO .....	72
<b>3</b>	<b>CAPÍTULO 3 – PROCEDIMENTOS COMPUTACIONAIS</b> .....	73
<b>3.1</b>	<b>Cálculo de Estrutura Eletrônica</b> .....	73
<b>3.2</b>	<b>Dinâmica e Metadinâmica Molecular da Solvatação da GlcN</b> .....	73
3.2.1	Propriedades Calculadas.....	74
<b>3.3</b>	<b>Dinâmica Molecular da Complexação da GlcN com Metais em Fase Gasosa e em Ambiente de Solvatação</b> .....	75
3.3.1	Propriedades Calculadas.....	76
<b>4</b>	<b>CAPÍTULO 4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	77
<b>4.1</b>	<b>Validação do Método</b> .....	77
<b>4.2</b>	<b>Solvatação Aquosa da GlcN</b> .....	79
4.2.1	Efeitos da Solvatação Aquosa sobre os Parâmetros Geométricos da GlcN .....	79
4.2.2	Análise da FDRP .....	80
4.2.3	TMR .....	88
4.2.4	Caracterização das Ligações de Hidrogênio por Parâmetros Geométricos e Energéticos .....	92
4.2.5	Análise de QTAIM das Ligações de Hidrogênio Formadas na Solvatação Aquosa da GlcN .....	95
4.2.6	Análise de NBO das Ligações de Hidrogênio Formadas na Solvatação.....	98
<b>4.3</b>	<b>Transferência de Hidrogênio via Metadinâmica</b> .....	101
<b>4.4</b>	<b>Complexação da GlcN com Cálcio</b> .....	103
4.4.1	Energia de Helmholtz e Energia de Complexação do Complexo GlcN_Ca <sup>2+</sup> .....	106

4.4.2	Análise Topológica dos Complexos GlcN_Ca <sup>2+</sup> .....	107
4.4.3	Análise de NBO do complexo GlcN_Ca <sup>2+</sup> .....	109
<b>4.5</b>	<b>Micro solvatação da complexação GlcN_Ca<sup>2+</sup></b> .....	<b>111</b>
4.5.1	Análise Topológica dos Complexos GlcN_Ca <sup>2+</sup> _H <sub>2</sub> O.....	112
4.5.2	Análise de NBO do complexo GlcN_Ca <sup>2+</sup> _H <sub>2</sub> O.....	113
<b>4.6</b>	<b>Complexação da GlcN com Cobalto</b> .....	<b>115</b>
4.6.1	Energia de Helmholtz e Energia de Complexação de GlcN_Co <sup>2+</sup> .....	118
4.6.2	Análise Topológica dos Complexos GlcN_Co <sup>2+</sup> .....	119
<b>4.7</b>	<b>Complexação de Co<sup>2+</sup> e GlcN em ambiente de solvatação aquosa</b> .....	<b>120</b>
<b>4.8</b>	<b>Avanços, Contribuições e Perspectivas</b> .....	<b>125</b>
4.8.1	Confrontos com o artigo de solvatação usando Monte Carlo .....	125
4.8.2	Confrontos com o artigo de complexação de GlcN e Ca <sup>2+</sup> .....	126
<b>4.9</b>	<b>Contribuições/Perspectivas Biológicas e Ambientais</b> .....	<b>127</b>
4.9.1	Ação contra a Osteoartrite.....	127
4.9.2	Ação Antimicrobiana .....	128
4.9.3	Remoção de íons do meio ambiente.....	129
<b>5</b>	<b>CAPÍTULO 5 – CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>130</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>131</b>
	<b>ANEXO A – TABELA S1</b> .....	<b>144</b>

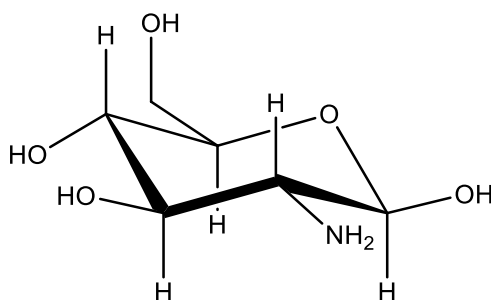
## CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

### 1.1 Glucosamina

A glucosamina (GlcN) é um monossacarídeo, cujo nome oficial é (2R,3R,4R,5S,6R) - 3 - amino - 6 (hidroximetano) oxano (Figura 1). Ela é precursora de glicosaminoglicanos, que por sua vez, é o bloco de construção de proteoglicanos, constituinte fundamental da cartilagem (FATTAHI et al., 2008; ZAHEDIPOUR et al., 2017). Além disso, é naturalmente formada no corpo humano a partir da glucosamina-6-fosfato (ANDERSON; NICOLosi; BORZELLECA, 2005). Mas também pode ser sintetizada a partir da hidrólise ácida da quitina (HATHCOCK; SHAO, 2007; ZHANG; YAN, 2017), um biopolímero encontrado na casca de caranguejos e camarões. No entanto, com o objetivo de evitar alergias alimentares, novos procedimentos têm sido empregadas na obtenção de GlcN, por exemplo, a fermentação da glicose derivada do milho, (HATHCOCK; SHAO, 2007; LOPES JÚNIOR; INÁCIO, 2013).

A GlcN é uma substância incolor, inodora, de natureza cristalina, com pH ácido, variando de 3,5 a 4,5, densidade de 0,75 g/mL e solúvel em água (SANTHOSH; MATHEW, 2008). Além de ser uma substância não tóxica, de baixo custo e fácil acesso (DALIRFARDOUEI; KARIMI; JAMIALAHMADI, 2016), é comumente comercializada na forma de cloridrato de GlcN ou sulfato de GlcN.

**Figura 1** - Representação da estrutura química da GlcN.



Os grupos funcionais amino ( $\text{NH}_2$ ) e hidroxila ( $\text{OH}$ ) na estrutura química da GlcN são responsáveis pela sua reatividade. A GlcN é capaz de autocondensação, convertendo-se por exemplo, em frutosamina e desoxifruosamina, cuja ação contra diabetes vem sendo investigada (HONG; BETTI, 2016; SHEN et al., 2017). A GlcN também tem sido utilizada

como sistema catalítico em reações de acoplamento C-C e C-N (GE et al., 2016; SOVA et al., 2015). Este monossacarídeo apresenta ainda, importantes propriedades biológicas e farmacológicas (HUGHES; CARR, 2002).

#### 1.1.1 Ação anti-inflamatória da GlcN

A ação anti-inflamatória da GlcN tem sido evidenciada por estudos *in vitro* e pré-clínicos, motivo pelo qual é utilizada no tratamento da osteoartrite, uma doença caracterizada por uma inflamação nas articulações (DALIRFARDOUEI; KARIMI; JAMIALAHMADI, 2016; HATHCOCK; SHAO, 2007; HUGHES; CARR, 2002). Esta enfermidade acomete a população mais idosa, em quem a produção de GlcN pelo organismo é diminuída. (LOPES JÚNIOR; INÁCIO, 2013). A organização de administração de alimentos e medicamentos dos Estados Unidos da América (do inglês *Food and Drug Administration* - FDA), considera a GlcN apenas como um suplemento nutracêutico e/ou dietético contra esta doença (HATHCOCK; SHAO, 2007; ZENG et al., 2015). Enquanto alguns outros países já prescrevem como medicamento no tratamento de osteoartrite (LOPES JÚNIOR; INÁCIO, 2013; MCALINDON et al., 2000; TOWHEED et al., 2009). Devido à ação anti-inflamatória e antioxidante, a GlcN mostra-se eficiente também no atraso da progressão de doenças neurológicas degenerativas, como o Alzheimer, e ainda na proteção do cardiomiócito contra lesão de isquemia dos tecidos (DALIRFARDOUEI; KARIMI; JAMIALAHMADI, 2016; JAMIALAHMADI, 2019).

#### 1.1.2 Ação anticancerígena da GlcN

A ação anticancerígena da GlcN vem sendo investigada desde de 1953 (QUASTEL; CANTERO, 1953). Estudos recentes reforçam a ação da GlcN contra o câncer, indicando que sua eficácia depende do tipo de diagnóstico (DALIRFARDOUEI; KARIMI; JAMIALAHMADI, 2016; JAMIALAHMADI, 2019; ZAHEDIPOUR et al., 2017). Por exemplo, a inibição da proliferação de células cancerígenas de próstata (LIU et al., 2011; OH et al., 2007; TSAI et al., 2009) e de mama (CHOU et al., 2015; OH et al., 2007). Os mecanismos anticancerígenos da GlcN não são bem esclarecidos, alguns estudos apontam sua ação na desfosforilação da proteína quinase ribossomal S6 de 70 kDa (p70S6k) (OH et al., 2007) ou a inibição da atividade proteassômica (quebra de ligação peptídica por enzimas

protease) resultando no acúmulo de proteínas ubiquitinadas (constituídas por 76 aminoácidos), seguido por indução de apoptose (LIU et al., 2011).

Hwang e Baek (2010) mostraram que a GlcN induz a morte celular autofágica através da estimulação de estresse do Retículo Endoplasmático (RE) em células de câncer de glioma (tumores cerebrais). Sabe-se que o RE é responsável por múltiplas funções celulares, dentre elas a regulação da concentração do cálcio. O estresse do RE desencadeia uma resposta a proteínas mal enoveladas (*UPR*, do inglês: *Unfolded Protein Response*), podendo induzir à morte celular. Um dos problemas clínicos importantes na terapia do câncer é a resistência das células cancerígenas à apoptose. Como um caminho alternativo para a apoptose, a autofagia é atualmente considerada um importante alvo de pesquisa para terapia antitumoral. Assim, os resultados de Hwang e Baek (2010), sugeriram que a GlcN é um agente citotóxico, que pode ser adicionado à lista de agentes indutores de autofagia com potencial quimioterápico. Além destes mecanismos mencionados, outros já foram relatados (CHOU et al., 2015; JUNG et al., 2012; TSAI et al., 2009), contudo, mais investigações precisam ser feitas neste sentido.

### 1.1.3 Ação dermatológica da GlcN

Somando às ações anti-inflamatórias e anticancerígena da GlcN, existem estudos sobre o uso da GlcN no tratamento dermatológico, podendo ser de uso oral ou tópico. A GlcN é um precursor da síntese de ácido hialurônico, contribuindo assim para a hidratação da pele, cicatrização de feridas e possivelmente para tratamentos estéticos (BISSETT, 2006; DALIRFARDOUEI; KARIMI; JAMIALAHMADI, 2016; JAMIALAHMADI, 2019; SHAUNAK et al., 2004).

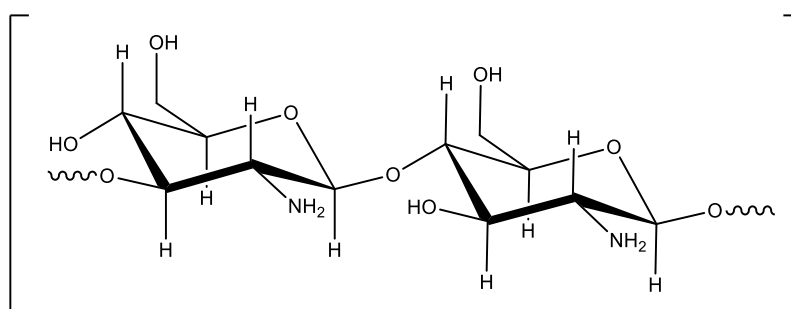
## 1.2 GlcN: O Monômero da Quitosana

Além das propriedades biológicas e farmacológicas mencionadas, a GlcN também tem sido alvo de estudo por ser a unidade monomérica da quitosana (ROBERTS, 1992), que é um biopolímero com várias aplicações, que despertam interesses tecnológicos. Sendo assim, são fundamentais as análises a nível molecular deste biopolímero, a fim de investigar propriedades geométricas, energéticas e possíveis interações. Estas análises em geral são realizadas pela química teórica. Devido ao alto custo computacional acarretado pelo biopolímero ou mesmo oligômeros, principalmente em cálculos usando métodos quânticos,

existem trabalhos que estudam o monômero da quitosana, a GlcN, como modelo para investigação (GOMES; JORGE; GOMES, 2014; HASSAN et al., 2017; HASSAN; MURALEEDHARAN; ABDUL MUJEEB, 2015; JEREMIĆ et al., 2018).

O nome oficial da quitosana é: (2R,3R,4R,5S,6R)-3-amino-5-(((2S,3R,4R,5S,6R)-3-amino-4,5-dihidroxi-6-(hidroximetil)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)-6-(hidroximetil) tetrahidro-2H-piran-2,4-diol (Figura 2), é obtida da desacetilação da quitina em meio alcalino. A quitina é insolúvel na maioria dos compostos orgânicos e na água, o que limita suas aplicações (KUMAR, 2000), sendo mais utilizada para obtenção da quitosana. O grau de pureza, de desacetilação e massa molar da quitosana varia com o método de preparação e da matéria prima usada, em geral este biopolímero comercial tem massa molar média na faixa de  $1 \times 10^5$  e  $1,2 \times 10^6$  Dalton (LARANJEIRA; FÁVERE, 2009).

**Figura 2** - Estrutura química da quitosana.



A quitosana possui propriedades como: sensibilidade de pH, biocompatibilidade, baixa toxicidade, biodegradabilidade (KAUR; DHILLON, 2014; LABIDI et al., 2016; RAFIQUE et al., 2016; YOUNES; RINAUDO, 2015). Além de habilidade para formar estrutura porosa, podendo ser moldada de várias formas (tubo, microesfera, bloco etc), possui também boa adesão e excelentes propriedades mecânicas (RAVI KUMAR, 2000). Devido às características mencionadas, a quitosana apresenta várias aplicações na medicina, inclusive, é usada para fabricação de materiais com baixo impacto na natureza, sendo comercializada na forma de filmes, hidrogel e fibras (ESCÁRCEGA-GALAZ et al., 2018; HUANG; LIU; ZHOU, 2017; LIVERANI et al., 2018). Tem sido utilizada ainda em revestimentos de nanopartículas magnéticas, para purificação de metais (CHANG; CHEN, 2006) e em grafenos funcionalizados, visando futuras aplicações em dispositivos eletrônicos e medicinais (CHIGO

ANOTA; TORRES SOTO; COCOLETZI, 2014; DÍAZ-CERVANTES; ROBLES; AGUILERA-GRANJA, 2018).

Acredita-se que o grupo da amina primária presente na quitosana é responsável por algumas propriedades como: natureza catiônica, adesão e controle de liberação de drogas (AHSAN et al., 2018; ALI; AHMED, 2018; CHEN et al., 2014; DÍAZ-CERVANTES; ROBLES; AGUILERA-GRANJA, 2018). Em meio ácido este grupo amino fica protonado, e muito provavelmente se liga ao grupo aniônico dos micro-organismos, o que confere a atividade antimicrobiana das quitosanas (FRIEDMAN et al., 2013; GONÇALVES et al., 2017). Assim, inibe o crescimento de bactérias como *Escherichia coli* e fungos, tais como: *Fusarium alternaria* e *Helminthosporium* (KUMAR, 2000; MUCCI et al., 2017). Quando complexada com cobalto II e níquel II a quitosana também apresenta atividades antibacterianas (ADEWUYI et al., 2011). A capacidade da quitosana em se ligar com cátions, favorece a liberação de substâncias bioativas no organismo, como por exemplo, o íon cálcio, que é carregado pela quitosana ao trato gastrointestinal, melhorando a adsorção deste íon pelo intestino (ZHU et al., 2020).

Na engenharia de tecidos, a quitosana é usada para manter ou reparar tecidos do organismo. Por ser um material biológico que apresenta maior compatibilidade com o ambiente natural do tecido, quando comparado com material sintético, a quitosana possui grande potencial neste campo (AHSAN et al., 2018; LEVENGOOD; ZHANG, 2014).

Este biopolímero possui também aplicações na indústria alimentícia, na agricultura e no tratamento de água (CAMPANA FILHO; SIGNINI; CARDOSO, 2007). Destaca-se o uso da quitosana como adsorvente de metais pesados no tratamento de águas residuais, pois resultados experimentais evidenciam sua eficiência (ANITHA et al., 2015; LUO et al., 2015; RAVI KUMAR, 2000; SADEGHI-KIAKHANI; ARAMI; GHARANJIG, 2013; SHAJAHAN et al., 2017). Diante da atual situação de contaminação do meio ambiente por metais pesados, vários métodos têm sido empregados na tentativa de retirar estes metais do meio ambiente, tais como: precipitação, oxidação e adsorção. Sendo que este último vem se destacando por ser uma técnica simples, barata, de fácil regeneração e que tem mostrado eficiência no tratamento de poluentes residuais (BURAKOV et al., 2018; FU; WANG, 2011; ZHANG; ZENG; CHENG, 2016).

Considera-se um bom adsorvente de metal pesado o processo que reúna características como: alta capacidade de adsorção, grande superfície, poros com tamanhos apropriados, fácil regeneração e rentabilidade. O carbono se mostrou como um bom

adsorvente de metais pesados, porém é uma técnica muito cara, tornando sua aplicação inconveniente (SALEHI; DARAEI; ARABI SHAMSABADI, 2016; ZHANG; ZENG; CHENG, 2016). Assim, biopolímeros, como a quitosana, vem sendo empregados como adsorventes de metais pesados, pois são baratos e eficientes (ANITHA et al., 2015; LUO et al., 2015; RAVI KUMAR, 2000; SADEGHI-KIAKHANI; ARAMI; GHARANJIG, 2013; SHAJAHAN et al., 2017).

### **1.3 GlcN: Complexação com Metais**

A complexação da GlcN com metais vem sendo investigada experimentalmente (MIR; RAJAK; MAURYA, 2017; WU et al., 2018) e teoricamente (FATTAHI et al., 2008; GOMES; JORGE; GOMES, 2014; HASSAN et al., 2017; HASSAN; MURALEEDHARAN; ABDUL MUJEEB, 2015; JEREMIĆ et al., 2018; TERREUX et al., 2006). Estes estudos apontam algumas aplicações, como por exemplo, a ação antimicrobiana de complexos da GlcN com ferro e zinco (MIR; RAJAK; MAURYA, 2017; WU et al., 2018). Sabe-se que vários metais são essenciais no nosso corpo, como Na, Mg, Ca, Fe, Co, Zn, dentre outros. Metais como: Co, Zn e Fe estão presentes no organismo na forma de complexos (AMOLEGBE et al., 2017), e muitas drogas são compostos de coordenação contendo metais, como por exemplo, drogas de terapia para diabetes (complexo de zinco) e vitamina B12 (complexo de cobalto). Portanto, há interesse em maiores investigações de complexos de GlcN com diferentes metais para o desenvolvimento e aprimoramento de produtos farmacológicos.

#### **1.3.1 Cálcio**

O cálcio é um metal fundamental para funções biológicas, como por exemplo, a sustentação do esqueleto. Além de que os canais de íons de cálcio regulam um conjunto diversificado de eventos celulares, tais como: contração muscular, liberação de neurotransmissores, proliferação e morte celular. Estudos medicinais têm associado o metabolismo desregulado de cálcio com a osteoporose (LANHAM-NEW, 2008), transtorno do espectro Autista (NGUYEN et al., 2018), desenvolvimento de câncer de próstata (AUNE et al., 2015; SHANAHAN et al., 2011) e cancer de mama (AZIMI; ROBERTS-THOMSON;

MONTEITH, 2014), além de doenças neurodegenerativas e a calcificação vascular, que aumenta o risco de infarto do miocárdio (SHANAHAN et al., 2011).

Então, se por um lado a concentração desregulada de cálcio possa contribuir para o desenvolvimento da osteoporose, para a sobrevivência de células cancerígenas ou mesmo prejudicar o funcionamento do coração e causar problemas neurodegenerativos (RECZEK; CHANDEL, 2018), por outro lado, a GlcN tem sido utilizada como suplemento alimentar para o tratamento da osteoartrite, vem sendo apontada como agente anticancerígeno (CHAUHAN; PUNDIR, 2014; JUNG et al., 2012; OH et al., 2007; TSAI et al., 2009; ZAHEDIPOUR et al., 2017) e de ação benéfica para proteção do coração e de danos neurais (DALIRFARDOUEI; KARIMI; JAMIALAHMADI, 2016; PARK et al., 2016).

A interação da GlcN com íons cálcio já foi apontada como benéfica à saúde em alguns trabalhos experimentais, por exemplo, Park e colaboradores (2016) mostraram que a GlcN pode inibir os canais de cálcio, tendo potencial para uma substância terapêutica no tratamento de doenças inflamatórias e neurodegenerativa, em que altas concentrações de cálcio são prejudiciais (PARK et al., 2016). Zhu e colaboradores (2019) mostraram que a GlcN, na forma polimérica, é promissora carreadora de cálcio, melhorando a adsorção deste íon pelo intestino (ZHU et al., 2020). Além de beneficiar os ossos, uma vez que ambos: GlcN e íons cálcio são essenciais para saúde óssea.

### 1.3.2 Cobalto

Como já foi exposto, pesquisas experimentais mostram a eficiência de remoção de metais pesados pela quitosana, sendo, portanto, interessante o estudo teórico da interação da GlcN (monômero da quitosana) com metais pesados, como: Cu, Co, Hg, Pb, dentre outros. Eles são um dos principais poluentes ambientais (JÄRUP, 2003). Este tipo de poluição deve-se, em parte, à urbanização, à industrialização e às atividades agrícolas (ZHANG; ZENG; CHENG, 2016). Esta contaminação é motivo de preocupação em nível mundial, devido à extensão que tem alcançado, bem como os riscos que trazem à saúde dos seres vivos (CHOWDHURY et al., 2016; ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2016). Poucos metais são considerados essenciais para a saúde humana, e mesmo estes considerados importantes, se tiverem sua concentração excedida, podem ser prejudiciais à saúde. Estudos mostram que o cobalto é um dos metais pesados que pode ser adsorvido por quitosanas (HUAI-MIN; XIAN-SU, 2004; MINAMISAWA et al., 1999; WANG et al., 2014). Ele vem

sendo utilizado na indústria para produzir ligas, na fabricação de motores de aeronaves, ímãs, ferramentas de corte e próteses para articulações artificiais de quadril e joelho, dentre outros (ATSDR, 2018). Está presente também em reatores nucleares (NISHAD et al., 2012). Estas atividades descarregam muito dos resíduos gerados no meio ambiente, provocando contaminação, sendo necessário tratamento. Metais pesados, como o cobalto, configuram como um destes poluentes que precisam ser removidos.

Além de aplicações industriais e em reatores nucleares, o cobalto é um elemento essencial para os mamíferos, pois forma a cobalamina (vitamina B12) que tem importante função no crescimento. A ingestão diária de cobalto por humanos na forma de vitamina B12 é de 0,1 µg/dia (cerca de 2,4 µg/dia de vitamina B12). Uma ingestão abaixo da necessária causa anemia, contudo, o consumo em excesso é prejudicial às células humanas (KIKUCHI et al., 2018). O radioisótopo Cobalto-60 é radioativo, com tempo de meia vida longo, cerca de 5,27 anos. É usado no tratamento de câncer, mas o uso excessivo pode provocar tumores malignos (ATSDR, 2018), problemas renais, gastrointestinais, hepáticos, respiratórios, cardiovasculares, dentre outras enfermidades (CHOWDHURY et al., 2016; ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2016). Por isso, manter a concentração de cobalto adequada para o organismo é essencial. A complexação de GlcN com cobalto II já foi estudada experimentalmente (URBANSKA; KOZLOWSKI, 1988), mas estudos que acesse a nível molecular não foram encontrados.

#### 1.4 Estudos Teóricos da GlcN

Além de investigações experimentais da GlcN e do biopolímero quitosana do qual ela é unidade monomérica, também existem estudos teóricos, tanto no que diz respeito à estrutura eletrônica, usando métodos estáticos, como no que se refere a simulações: usando Monte Carlo e dinâmica molecular. A seguir serão reportados alguns destes estudos abordando a GlcN (monômero da quitosana), quitobiose (seu dímero) ou mesmo o biopolímero quitosana.

Dos estudos de estrutura eletrônica existem trabalhos empregando o método *ab initio* de Hartree-Fock e a Teoria do Funcional da Densidade, do inglês, *Density Functional Theory* (DFT). O método de Hartree-Fock foi utilizado para estudar a complexação da GlcN com os íons cádmios ( $Cd^{2+}$ ), na ausência e na presença de até 4 moléculas de água, trabalho desenvolvido por Ilchenko e Leszczynski (2004). Os pesquisadores concluíram que o número

de moléculas de água que coordenam o sistema GlcN\_Cd<sup>2+</sup> resultam em diferentes energias e que quanto maior o número de moléculas de água na esfera de hidratação, maior a estabilidade, sendo provável a formação de diferentes complexos neste tipo de sistema (ILCHENKO; LESZCZYNSKI, 2004).

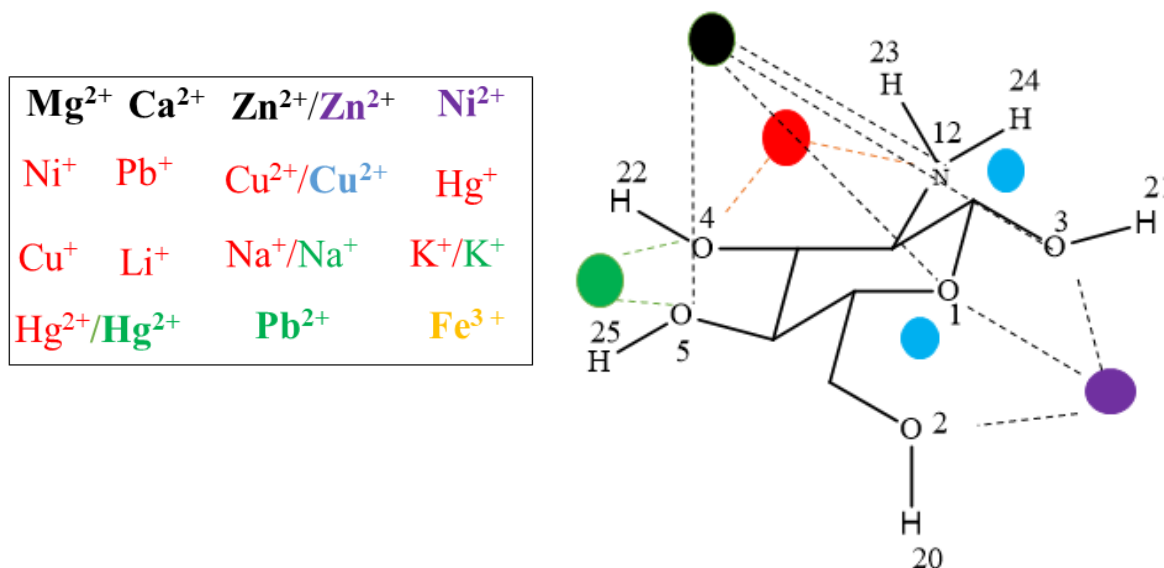
Xue e colaboradores (2010) estudaram as conformações: gauche-gauche (gg), trans-gauche (tg) e gauche-trans (gt) da GlcN, usando a DFT. Os resultados mostraram que as 3 conformações são estáveis, seguindo a ordem de estabilidade: gg > gt > tg ( XUE et al., 2010).

Outros trabalhos têm reportado o uso da DFT no estudo teórico da GlcN (DARWISH et al., 2016; FATTAHI et al., 2008; GOMES; JORGE; GOMES, 2014; HASSAN et al., 2017; HASSAN; MURALEEDHARAN; ABDUL MUJEEB, 2015; JUÁREZ et al., 2013; KOTENA; FATTAHI, 2020; MU et al., 2016). Para melhor compreensão, os demais estudos de DFT envolvendo a GlcN, serão divididos em três categorias: I. Complexação de metais pela GlcN; II. Mecanismos de reação envolvendo GlcN; III. Adsorção da GlcN em superfície.

#### 1.4.1 Complexação de metais com a GlcN usando a DFT

A complexação da GlcN com metais vem sendo investigada teoricamente, usando a DFT com diferentes níveis de cálculos. Dentre os metais estudados, pode-se citar: metais alcalinos, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Li<sup>+</sup>, (FATTAHI et al., 2008; KOTENA; FATTAHI, 2020), alcalinos terrosos, Mg<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup> (FATTAHI et al., 2008) e metais de transição: Zn<sup>+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, (FATTAHI et al., 2008; GOMES; JORGE; GOMES, 2014), Fe<sup>3+</sup> (BHATIA; CARDELINO; RAVI, 2005), Cu<sup>+</sup>, Cu<sup>2+</sup> (GOMES; JORGE; GOMES, 2014; TERREUX et al., 2006), Ni<sup>+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, (GOMES; JORGE; GOMES, 2014), (Hg<sup>+</sup>, Hg<sup>2+</sup>), (HASSAN et al., 2017; JEREMIC' et al., 2018) e Pb<sup>+</sup>, Pb<sup>2+</sup> (HASSAN; MURALEEDHARAN; ABDUL MUJEEB, 2015; JEREMIC' et al., 2018). Na Figura 3, estão indicados os locais de preferência de complexação dos metais investigados. As cores dos íons no retângulo do esquema correspondem às cores das esferas posicionadas próximo aos sítios da GlcN. O mesmo íon que possui cores diferentes indica que foram estudados por mais de um autor e que os resultados divergiram. O trabalho que investiga a interação do íon ferro III e a GlcN não mostrou o local de preferência da complexação.

**Figura 3** - Representação esquemática da geometria da complexação de metais com a GlcN já investigados (BHATIA; CARDELINO; RAVI, 2005; FATTAHI et al., 2008; GOMES; JORGE; GOMES, 2014; HASSAN et al., 2017; HASSAN; MURALEEDHARAN; ABDUL MUJEEB, 2015; JEREMIC' et al., 2018; TERREUX et al., 2006). A cor de cada esfera corresponde à cor do íon no retângulo do esquema. Íons com mais de uma cor são aqueles estudados em mais de um trabalho e com resultados divergentes.



A Figura 3 mostra que as complexações, em geral, ocorreram nos sítios  $NH_2$ , nas hidroxilas e/ou no heteroátomo, sendo que a posição entre N(12) e O(4) é a preferencial, seguida das posições entre O(4) e O(5) e a posição próxima à O(1), O(2) e O(3). Os estudos de estrutura eletrônica realizados entre GlcN e os íons mostram que a preferência do local de complexação depende do tipo de metal investigado, tipo de valência e do nível de cálculo empregado (FATTAHI et al., 2008; GOMES; JORGE; GOMES, 2014; HASSAN et al., 2017; HASSAN; MURALEEDHARAN; ABDUL MUJEEB, 2015; JEREMIC' et al., 2018; TERREUX et al., 2006).

Bhatia, Cardelino e Ravi (2005) estudaram a complexação da GlcN com o  $Fe^{2+}$  e  $Fe^{3+}$ . Para isso, usaram o nível de cálculo B3LYP/6-311G(3df, 3pd) (BECKE, 1993; FRISCH; POPLE; BINKLEY, 1984), para átomos com número atômico menor que 36. Em caso de átomos maiores usaram o funcional B3LYP/3-21G(d,p) (MARTYNA; KLEIN; TUCKERMAN, 1992). Os pesquisadores concluíram que o sistema é estável quando apresenta uma complexação tetradentada ou hexadentada (BHATIA; CARDELINO; RAVI, 2005), não indicando local de preferência de complexação.

A coordenação do  $Cu^{2+}$  e a GlcN foi estudada por Terreux e colaboradores (2006) usando o funcional de correlação e troca de Perdew-Becke-Ernzerhof (PBE) (PERDEW;

BURKE; ERNZERHOF, 1996) com conjunto de base double zeta (DZ). Concluíram que, o sítio mais ativo da GlcN, para complexação monodentada é o grupo amino. Outro sítio possível é o oxigênio heterocíclico. A coordenação bidentada também foi analisada e concluíram que tanto N(12) e O(4) como O(3) e O(1) da GlcN são sítios improváveis para complexação (Figura 3) (TERREUX et al., 2006).

Fattahi e colaboradores (2008) usaram o nível de cálculo B3LYP/6-31G\*\* para estudar a complexação da GlcN com os íons monovalentes:  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  e com os íons bivalentes:  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Zn}^{2+}$ . Os resultados mostraram que os íons monovalentes fazem coordenação bidentada nas posições mostradas na Figura 3. Já os cátions bivalentes, formam complexos tetradentados (FATTAHI et al., 2008) (Figura 3). Resultados experimentais mostraram que o zinco, de fato complexa com GlcN, evidenciando que o método DFT tem sido adequado na descrição do sistema. Fattahi e colaboradores (2008) concluíram ainda que o grupo O(3)-H(21) da GlcN é o sítio mais ácido. Além do estudo de complexação, as análises indicaram várias interações intramoleculares na molécula de GlcN, nos seguintes locais: O(4)-H(22)--O(2); O(3)-H(21)--O(1); N(12)-H(23)--O(3) e N(12)-H(23)--O(5).

Os pesquisadores Gomes, Jorge e Gomes (2014) investigaram a complexação da GlcN e N-acetil GlcN (GlcNAc) com os seguintes íons:  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^+$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^+$  e  $\text{Zn}^{2+}$ , usando o nível de cálculo B3LYP/6-31+G\*\* (FRISCH; POPLE; BINKLEY, 1984). Os resultados dos cálculos sugeriram que N-acetil-GlcN é mais ácida que GlcN e que a estabilidade em relação a complexação do metal é semelhante em ambas. Em relação aos íons monovalentes ( $\text{Cu}^+$  e  $\text{Ni}^+$ ), eles concluíram que a posição mais favorável à complexação com GlcN é entre N(12) e O(4) formando complexos bidentados, sendo que o complexo formado com níquel ( $\text{Ni}^+$ ) é mais estável do que o formado com cobre ( $\text{Cu}^+$ ) (Figura 3) (GOMES; JORGE; GOMES, 2014).

Em relação aos íons divalentes, o complexo mais estável foi o de cobre. Os autores perceberam que a complexação de  $\text{Cu}^{2+}$  com GlcN ocorre preferencialmente na posição N(12)-O(4) (GOMES; JORGE; GOMES, 2014). Estas descobertas concordaram com resultado experimental de complexação GlcN e  $\text{Cu}^{2+}$ , usando a técnica de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier, apresentado no trabalho de Rogina e colaboradores (2019), em que o local de preferência de complexação do  $\text{Cu}^{2+}$  é com os sítios N(12) e O(4) da GlcN (ROGINA et al., 2019). Porém, discordam dos resultados de Terraxus e colaboradores (2006), citados anteriormente. A divergência dos resultados teóricos pode ser justificada pelo fato dos autores terem usado diferentes níveis de cálculo, sendo que o nível de

cálculo B3LYP/6-31+G\*\*(FRISCH; POPLÉ; BINKLEY, 1984) mostrou-se mais eficiente para reproduzir os dados experimentais. É importante notar que, no estudo de Terrexus et al., (2006), não foram utilizadas funções difusas, nem funções polarizadas, que são importantes para uma melhor descrição deste tipo de sistema (CLARK et al., 1983; FRISCH; POPLÉ; BINKLEY, 1984).

Os resultados dos cálculos de Gomes, Jorge e Gomes (2014) envolvendo a complexação com  $\text{Ni}^{2+}$  e o  $\text{Zn}^{2+}$  mostraram a formação de coordenação trivalente, sendo que o sítio mais estável é: O(1), O(2) e O(3) (Figura 3) (GOMES; JORGE; GOMES, 2014). Os pesquisadores realizaram também a complexação dos metais bivalentes com GlcN em meio aquoso. Foram adicionadas de uma a três moléculas de água. Concluíram que com a adição de água, o sítio N(12)-O(4) (Figura 3) torna preferencial para todos os metais bivalentes estudados.

Hassan, Muraleedharan e Abdul (2015) usando nível de cálculo B3LYP/6-31G estudaram a complexação da GlcN com  $\text{Pb}^{2+}$ . Foram investigadas sete posições iniciais do metal em relação à GlcN. A complexação mais estável foi aquela em que formava um anel pentagonal, pela coordenação do íon com os sítios O(4) e O(5) da GlcN. Mostraram ainda que os derivados aromáticos da GlcN são mais reativos e formam complexos mais estáveis (HASSAN; MURALEEDHARAN; ABDUL MUJEEB, 2015). Em outro artigo, Hassan e colaboradores (2017) observaram também a formação do anel pentagonal pela coordenação de  $\text{Hg}^{2+}$  no sítio do nitrogênio e seu oxigênio vizinho O(4) (HASSAN et al., 2017), usando B3LYP/LanL2DZ (HAY; WADT, 1985).

Jeremić e colaboradores (2018) usando o funcional de correlação e troca M062X (ZHAO; TRUHLAR, 2008) e pseudo LanL2DZ (HAY; WADT, 1985), investigaram a complexação da GlcN com os íons monovalentes e bivalentes de mercúrio e chumbo. Os resultados dos seus estudos apontaram que o complexo formado entre GlcN e  $\text{Pb}^+$  é mais favorável do que o formado entre GlcN e  $\text{Hg}^+$ . Em contrapartida, o complexo formado por  $\text{Hg}^{2+}$  mostrou-se mais favorável que  $\text{Pb}^{2+}$ . Observou-se que o sítio de complexação de preferência do  $\text{Pb}^{2+}$  foi o mesmo mencionado no trabalho de Hassan e colaboradores (2015), embora tenha usado níveis de cálculos diferentes. Já, em relação ao sítio de preferência de complexação do mercúrio, houve divergência, sendo os sítios N(12) e O(4) encontrados por Hassan e co-autores (2017) e os sítios O(4) e O(5) encontrados por Jeremić e co-autores (2018). Os resultados mostraram que a presença de moléculas de água estabiliza fortemente os complexos, formando várias ligações de hidrogênio.

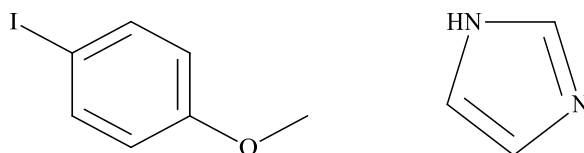
Recentemente, Kotena and Fattahi (2020) estudaram a complexação de GlcN e a GlcNAc com os íons:  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$ , usando nível de teoria B3LYP/6-311++G(d,p). Os resultados dos cálculos mostraram que para os três íons investigados a complexação ocorreu de forma bidentada com os sítios: N(12) e O(4), e que a afinidade do metal aumentava com a diminuição do raio atômico (KOTENA; FATTAHI, 2020).

Em nenhum trabalho mencionado observou-se o emprego de funcional que contenha dispersão e inclusão de bases difusas e polarizáveis simultaneamente, que são mais eficientes em descrever interação de longo alcance, uma vez que os sistemas estudados contêm íons. Portanto, melhores investigações precisam ser feitas neste sentido.

#### 1.4.2 Análise de mecanismos envolvendo a estrutura da GlcN usando a DFT

Pesquisadores estudaram também os mecanismos de reações envolvendo a GlcN usando a DFT para investigação. A seguir serão descritos alguns trabalhos desta natureza. Ge e colaboradores (2016) estudaram, usando nível de cálculo B971/def2-TZVP (CHAI; HEAD-GORDON, 2008), o complexo de GlcN-cobre I, quanto a sua função catalítica, em uma reação do tipo Ullmann de acoplamento C-N, entre o iodoanizol e imidazol (Figura 4). Construíram quatro catalisadores, sendo todos formados por GlcN-cobre I, modificando apenas a posição da coordenação bidentada do cobre I. Os sítios da GlcN para formação dos catalisadores foram: catalisador A (O(2)-O(5)), catalisador B (O(4)-O(5)), catalisador C (N(12)-O(3)) e catalisador D (N(12)-O(4)) (veja numeração na Figura 3). Os autores concluíram que os catalisadores A e B são eficientes para promover o acoplamento, e que independente do catalisador, o caminho da reação é o mesmo. Já os catalisadores C e D não foram analisados, por que os autores não conseguiram convergir a energia (GE et al., 2016).

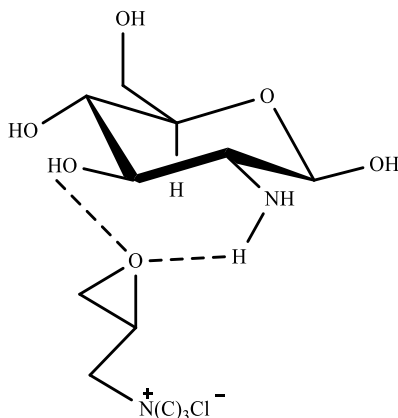
**Figura 4** - Estrutura química do iodoanizol e do imidazol.



O mecanismo da reação entre o monômero da quitosana e o 2,3-epoxipropiltrimetil cloreto de amônio foi estudado teoricamente por Mu e colaboradores (2016). Para isso, usaram o nível de cálculo: B3LYP/6-31G(d,p). Os resultados dos cálculos

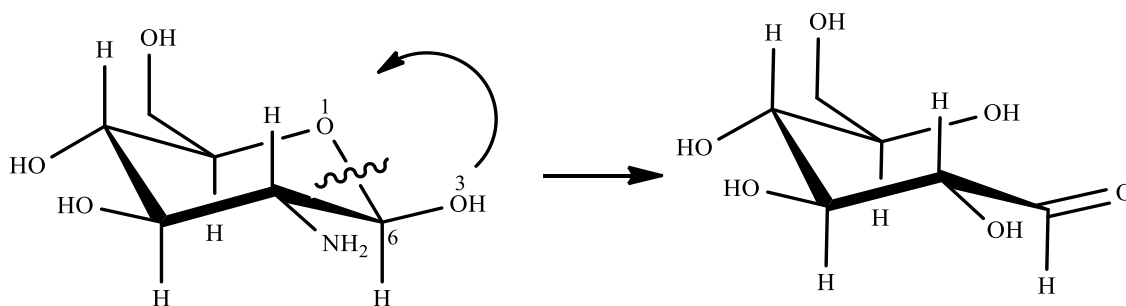
mostraram que o grupo  $\text{NH}_2$  da GlcN é mais reativo do que as hidroxilas. Os resultados destacaram também que interações do tipo ligações de hidrogênio formadas entre o oxigênio do 2,3-epoxipropiltrimetil cloreto de amônio com uma hidroxila e com o grupo amino da GlcN (Figura 5), estabilizam o intermediário da reação (MU et al., 2016).

**Figura 5** - Ligações de Hidrogênio formadas no intermediário da reação entre GlcN e o 2,3-epoxipropiltrimetil cloreto de amônio.



Outro mecanismo de reação investigado teoricamente, foi a conversão seletiva de GlcN em desoxi-frutosazina e frutosazina descrito no trabalho de Jia e colaboradores (2017). O nível de cálculo usado foi B3LYP/6-311G(d,p). Os resultados do estudo destes autores indicaram que no estado intermediário da reação, a cadeia cíclica da alfa-GlcN é convertida na forma de cadeia aberta. Este processo ocorre devido à quebra de ligação entre o C(6) e o heteroátomo O(1), formando dupla ligação entre C(6) e O(3) e finalmente a migração intramolecular de prótons de O(3) para O(1), conforme Figura 6 (JIA et al., 2017).

**Figura 6** - Abertura da cadeia de GlcN em uma das etapas de condensação de GlcN em desoxi-frutosazina e frutosazina.



### 1.4.3 Adsorção da GlcN em superfícies usando DFT

A adsorção da GlcN por diferentes tipos de superfícies também foi estudada teoricamente. Os estudos relatados incluem a adsorção de GlcN em aglomerado de cobalto (TERESHCHUK, 2011), nanotubos de nitreto de boro (JUÁREZ et al., 2013), grafeno (CHIGO ANOTA; TORRES SOTO; COCOLETZI, 2014), grafeno de boro (CHIGO ANOTA; TORRES SOTO; COCOLETZI, 2014) e nanofolha de nitreto de boro hexagonal dopada com Al e Ga (DARWISH et al., 2016).

Tereshchuk (2011) estudou a interação da GlcN com aglomerados de 2 a 19 cobaltos usando DFT/LDA (LEE; YANG; PARR, 1989). Resultados indicaram que existe na interação GlcN – cobalto uma competição entre os grupos  $\text{NH}_2$  e OH. Embora os valores da energia de interação sejam bem próximos, a interação através do nitrogênio é mais forte do que do oxigênio (TERESHCHUK, 2011).

Juárez e colaboradores (2013) estudaram a adsorção de GlcN em nanotubos de nitreto de boro, usando DFT/PW (PERDEW et al., 1992) com pseudo-potencial Dolg-Bergner (BERGNER et al., 1993; DOLG et al., 2002). Os resultados dos estudos revelaram que a adsorção ocorre pela transferência parcial de cargas do nitrogênio para os orbitais desocupados do boro, advindo preferencialmente na posição perpendicular (JUÁREZ et al., 2013).

A adsorção da GlcN pelo grafeno e grafeno-boro foi investigada por Chigo, Torres e Cocolletzi (2014) usando DFT/HCTH (HAMPRECHT et al., 2002). Os autores concluíram que em ambas as superfícies (grafeno e boro-grafeno) a posição em que a GlcN está perpendicular ao hexano central da malha apresenta menor energia (CHIGO ANOTA; TORRES SOTO; COCOLETZI, 2014). Concluíram também que, como biossensor, a folha de nano grafeno funcionalizada com boro-GlcN é superior a de grafeno – GlcN (CHIGO ANOTA; TORRES SOTO; COCOLETZI, 2014).

Darwish e colaboradores (2016) calcularam a energia de adsorção da GlcN pela nano folha de nitreto de boro dopado com alumínio e gálio, usando funcional de correlação e troca PBE. Os resultados revelaram que a dopagem das folhas com alumínio e gálio potencializa a adsorção da GlcN, sendo que, com alumínio, a adsorção é mais forte do que com gálio. Mostraram ainda que, a adsorção ocorre através do nitrogênio do grupo amino da GlcN (DARWISH et al., 2016).

A adsorção de GlcN nas estruturas de nanotubos de carbono com parede única foi estudada por Díaz e colaboradores (2017) usando nível de cálculo PBE/6311G(d,p). Os resultados dos cálculos indicaram que a GlcN é uma molécula funcionalizante que confere grande solubilidade da estrutura em meio aquoso. Concluíram ainda que a interação entre a GlcN e o nanotubo ocorre através do nitrogênio (DÍAZ-CERVANTES et al., 2017).

Ebrahimi, Ahangari e Jahanshahi (2018) investigaram a interação da GlcN com duas folhas hexagonais: grafeno e nitreto de boro hexagonal (h-BN), usando o nível de cálculo PBE/def2-SVP (WEIGEND; AHLRICH, 2005). Ao contrário dos demais trabalhos envolvendo adsorção de GlcN, o resultado destes pesquisadores indicaram que a posição paralela entre a GlcN e as superfícies de grafeno e h-BN é a que confere maior estabilidade. Percebendo ainda que a GlcN se aproxima mais da superfície de h-BN do que de grafeno. Concluíram também que principalmente na camada de grafeno, o tipo de interação predominante é a de dispersão e que no sistema hexagonal de nitreto de boro, as interações eletrostáticas também desempenham papel fundamental (EBRAHIMI; AHANGARI; JAHANSHAH, 2018).

Outro trabalho teórico de Díaz e colaboradores (2018) teve como objetivo a investigação de nano vetores como portadores de drogas. Para isso, usaram o nível de cálculo: PBE/6-311G\*\*. Para realizar as análises, três nanotubos de parede única foram funcionalizados com GlcN e com uma das drogas utilizadas no tratamento de câncer de ovário (altretamina, melfalano e ciclofosfamida). A GlcN foi posicionada verticalmente nos três sistemas, fazendo adsorção através do carbono em que está ligado o grupo amino da GlcN. O papel da GlcN era de solubilização do sistema. Resultados mostraram que comparando a droga sozinha e o sistema dos nanotubos de parede única funcionalizados pela GlcN e as drogas, houve uma diminuição no gap de energia, aumento da eletrofilicidade e da solubilidade. O aumento da solubilidade é importante neste caso, pois contribui para menor toxicidade, maior biocompatibilidades e melhor excreção da droga (DÍAZ-CERVANTES; ROBLES; AGUILERA-GRANJA, 2018).

Em resumo, estes estudos mostraram que a adsorção da GlcN ocorre preferencialmente pelo sítio do nitrogênio N(12), e o alinhamento vertical é a posição preferida (CHIGO ANOTA; TORRES SOTO; COCOLETZI, 2014; JUÁREZ et al., 2013).

#### 1.4.4 Complexação de metais com o dímero da quitosana

Além dos vários estudos teóricos de DFT envolvendo o monômero da quitosana, existem também estudos que investigaram o dímero. A seguir serão descritos dois destes trabalhos. Braier e Jishi (2000) investigaram a interação da quitosana (através do dímero) com cobre II e níquel II usando a DFT, concluíram que ambas as interações ocorrem próximo ao oxigênio glicosídico, e que tanto o oxigênio da hidroxila, como o nitrogênio do grupo amino podem formar interações (BRAIER; JISHI, 2000).

Lu, Cao e Shen (2008) estudaram a interação de cobre II com quitina e quitosana (através do dímero) com coordenação completada com os grupos  $H_2O/OH^-$ . Usaram o método da DFT com funcional de correlação e troca BLYP e conjunto de função de bases 6-31G\*. Resultados deste estudo apontaram a tendência de complexação do  $Cu^{2+}$  com os principais grupos funcionais da estrutura, sendo:  $-NH_2 > -OH > H_2O > -NHCOCH_3$ . Concluíram ainda que a hexacoordenação é mais estável que a tetracoordenação (LÜ; CAO; SHEN, 2008).

#### 1.4.5 Simulações da GlcN usando Monte Carlo

A solvatação aquosa da GlcN foi investigada por Siraleartmukul e colaboradores (2004), que usaram simulação de Monte Carlo (METROPOLIS et al., 1953) e fizeram análise da Função de Distribuição Radial de Pares (FDRP). Os resultados mostraram que existem 7 moléculas de água na primeira esfera de hidratação do monossacarídeo, cujo raio mede 4,6 Å (SIRALEARTMUKUL et al., 2004). Apontaram também que o número de coordenação variava de 0,2 a 1,0 nestes sítios. Os resultados indicam formação de ligação de hidrogênio de moléculas de água com a molécula de GlcN. Um pico pronunciado foi observado em todos os sítios da GlcN analisados, exceto no sítio da hidroxil ligada ao  $CH_2$  da GlcN, O(2)-H(20), conforme numeração da Figura 3. O sítio do heteroátomo, O(1) mostrou pico pronunciado e número de coordenação igual a 1,0. Portanto, uma forte ligação de hidrogênio foi sugerida pelos autores, que também destacaram a mobilidade das moléculas de água entre a primeira e a segunda esfera de hidratação.

Skovstrup e coautores (2010) usaram simulação de Monte Carlo para estudar a flexibilidade da conformação de di, tri e tetrassacarídeos de quitina e quitosana, fazendo exaustivas combinações entre os seus monômeros N-acetil-GlcN e GlcN, respectivamente. A conformação mais flexível, das estudadas, é a do dissacarídeo: GlcN-N-acetil-GlcN.

Concluíram ainda que a liberdade conformacional de uma ligação glicosídica não depende da flexibilidade de outras ligações ao longo do oligômero (SKOVSTRUP et al., 2010).

Estudos da solvatação da GlcN são escassos, foi encontrado apenas o estudo de Siraleartmukul e colaboradores (2004), além deste, apenas trabalhos empregando dinâmica molecular para o polímero quitosana (FARIA et al., 2016; FRANCA et al., 2008; FRANCA; FREITAS; LINS, 2011; SHEN et al., 2017) e derivados da quitosana (ZHONG; BAUER; PATEL, 2011).

#### 1.4.6 Simulações de dinâmica molecular da quitosana e GlcN

A dinâmica molecular clássica demanda menos tempo computacional para realizar os cálculos e se mostra eficiente na análise de estruturas com maior número de átomos. Assim, na literatura encontram-se alguns trabalhos empregando este método para estudar o polímero quitosana. Franca e colaboradores (2008) são um exemplo de pesquisadores que estudaram a estrutura de quitina e quitosana em meio aquoso, usando dinâmica molecular clássica. Os autores chegaram à conclusão que a solubilidade e a conformação deste biopolímero está relacionada à estabilidade de interação intermolecular que ocorre em sua estrutura química (FRANCA et al., 2008).

Uma vez que o biopolímero quitosana é definido pelo grau de desacetilação da quitina, Franca, Freitas e Lins (2011) investigaram a influência do grupo acetil na conformação e solubilidade deste biopolímero. Seus resultados mostraram que até em 40% de acetilação o biopolímero é moderadamente solúvel, mas acima de 60% de acetilação torna-se insolúvel (FRANCA; FREITAS; LINS, 2011). Em simulações de dinâmica molecular clássica posteriores, Faria e colaboradores (2016) mostraram que o arranjo das cadeias dos biopolímeros quitina e quitosana afetam a sua solubilidade em meio aquoso (FARIA et al., 2016).

Shen e colaboradores (2017) aplicaram dinâmica molecular clássica para análise de quitosana, assim, construíram quitosanas com composições diferentes. Três tipos de unidades foram usados nesta construção, sendo uma, a GlcN, outra a N-acetil – GlcN e ainda a GlcN com grupo amino protonado. O objetivo era compreender o mecanismo de interação entre o DNA e a quitosana, uma vez que a quitosana tem sido utilizada como carreadora de gene. Os resultados da pesquisa levaram Shen e co-autores (2017) a concluírem que o tipo de grupo funcional ( $\text{NH}_2$ ,  $\text{NH}_3^+$  ou  $\text{NHCOCH}_3$ ) e o comprimento do polinucleotídeo regulam a

interação da quitosana e do DNA. A capacidade de encapsulamento do polinucleotídeo pela quitosana é balanceada principalmente por dois fatores: a tendência de auto-agregação do polinucleotídeo e força de agregação dele com a quitosana. Os autores perceberam que a forte interação eletrostática do grupo amino protonado nas unidades monoméricas de GlcN com o grupo fosfato do polinucleotídeo, evita parcialmente a agregação, tendo maior capacidade de dispersante do que os dois outros funcionais investigados, o que pode melhorar a encapsulação de polinucleotídeos por quitosana e, portanto, aumentar a eficiência de entrega do transportador gênico.

Zhong, Bauer e Patel (2011) estudaram a solvatação de um derivado da GlcN, a N-acetil- $\beta$ -GlcN, por dinâmica molecular incorporando polarização eletrostática. Os autores concluíram que a formação de ligações de hidrogênio intramoleculares define a geometria da ligação glicosídica do dímero. Notando ainda, que as ligações de hidrogênio intermolecular contribuem para estabilizar o sistema (ZHONG; BAUER; PATEL, 2011).

Tayyem, Zughul e Almatarneh (2018) também utilizaram a dinâmica molecular clássica para simulação. Os pesquisadores estudaram a N-octil-N-quaternizada-quitosana em meio aquoso a fim de verificar sua eficácia como carreadora de fármaco. Perceberam que a quaternização (substituição de  $\text{NH}_2$  por  $\text{N}(\text{CH}_3)_3$ ) dificulta a formação de ligação de hidrogênio intramolecular, o que leva a diminuição da rigidez da espinha dorsal da quitosana. Verificaram também que a substituição do octil tem efeitos bem menos pronunciados, quanto à rigidez. Os autores estudaram ainda a influência da água em uma única unidade monomérica, e verificaram que há formação da interação intramolecular confere estabilidade à estrutura.

Estudos de dinâmica molecular *ab initio* da solvatação da GlcN ou mesmo sua complexação são limitados. Apenas um trabalho empregando dinâmica molecular *ab initio* foi encontrado na literatura, no qual a solvatação do N-propionil-D-GlcN (derivado da GlcN) foi investigada por dinâmica molecular de Car-Parrinello (DMCP) (CAR; PARRINELLO, 1985; HAN et al., 2013). Os seguintes solventes foram analisados: água, dimetilsulfóxido e metanol. Os resultados mostraram que ao serem empregados os solventes água e metanol, ocorrem aglomerados de solventes ao redor do soluto, porém o mesmo não ocorre quando se usa dimetilsulfóxido (HAN et al., 2013).

Embora existam trabalhos experimentais (LIU et al., 2013; WU et al., 2018) evidenciando efeitos da GlcN no combate à osteoartrite, aos microorganismos, melhorias cardiovasculares e neurológicas, estudos em nível molecular sobre suas interações/reações ainda são limitados. Principalmente no que diz respeito às simulações de dinâmica molecular

*ab initio*, método que permite análise de polarizabilidade, transferência de carga e quebra/formação de ligações explicitamente (HASSANALI et al., 2014). Portanto, nosso trabalho teve como objetivo estudar a solvatação aquosa da GlcN e sua complexação com os íons cálcio e cobalto II usando a DMCP (CAR; PARRINELLO, 1985). Teve como finalidade também, analisar as interações das moléculas de água com os sítios da GlcN por meio da FDRP e o Tempo Médio de Residência (TMR). Além da caracterização das ligações de hidrogênio e das interações da GlcN com íons, através de parâmetros geométricos e energéticos, da Teoria Quântica de Átomos em Moléculas (do inglês: *Quantum Theory Atoms In Molecule-QTAIM*) (BADER, 1985) e dos Orbitais Naturais das Ligações (do inglês: *Natural Bond Orbital -NBO*).(REED; CURTISS; WEINHOLD, 1988). Objetivou-se ainda estudar o mecanismo de protonação do grupo amino da GlcN por molécula de água usando Metadinâmica.

Este trabalho foi estruturado da seguinte forma: na seção 2, apresentaremos a fundamentação teórica empregada; na seção 3, estão descritos os procedimentos computacionais; na seção 4, os resultados obtidos e sua discussão e na seção 5 serão apresentadas as principais conclusões dos estudos.

## CAPÍTULO 2 – FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Com intuito de fundamentar os procedimentos computacionais do nosso trabalho, nesta seção serão apresentados os aspectos teóricos dos métodos de estrutura eletrônica, dinâmica molecular *ab initio*, bem como de propriedades eletrônicas e estruturais.

### 2.1 Introdução

As ideias de Max Planck inauguraram o início da mecânica quântica, que contou com a contribuição de vários estudiosos para ser aprimorada e torna a ferramenta essencial para compreensão em nível molecular (LEVINE, 2000). Com a concepção do comportamento ondulatório da matéria foi necessária uma reformulação na descrição das partículas subatômicas. Erwin Schrödinger foi bem-sucedido nesta tentativa, desenvolvendo a então conhecida: equação de Schrödinger, que na sua forma independente do tempo pode ser escrita como mostra a Equação (1):

$$\hat{H}\Psi = E\Psi. \quad (1)$$

O hamiltoniano  $\hat{H}$  expresso em unidades atômicas ( $\hbar = e = m_e = 4\pi\epsilon_0 = 1$ ), pode ser descrito como:

$$\begin{aligned} \hat{H} = & -\frac{1}{2} \sum_{i=1}^n \nabla_i^2 - \frac{1}{2} \sum_{\alpha=1}^n \frac{1}{M_\alpha} \nabla_\alpha^2 - \sum_{i=1}^n \sum_{\alpha=1}^m \frac{Z_\alpha}{|\mathbf{r}_i - \mathbf{R}_\alpha|} \\ & + \sum_{i=1}^n \sum_{j>1}^m \frac{1}{|\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j|} + \sum_{\alpha=1}^n \sum_{\beta>\alpha}^m \frac{Z_\alpha Z_\beta}{|\mathbf{R}_\alpha - \mathbf{R}_\beta|}. \end{aligned} \quad (2)$$

A primeira parcela da Equação (2) corresponde à energia cinética dos elétrons ( $\hat{T}_e$ ), a segunda parcela à energia cinética dos núcleos ( $\hat{T}_n$ ), a terceira parcela relaciona-se à energia potencial de atração núcleo-elétron ( $V_{ne}$ ), a penúltima parcela é a energia potencial de repulsão elétron-elétron ( $V_{ee}$ ) e a última parcela refere-se à repulsão núcleo-núcleo ( $V_{nn}$ ). O termo  $M_\alpha$  refere à massa nuclear,  $Z_{\alpha/\beta}$  à cargas nucleares,  $\mathbf{r}_{i/j}$  às s coordenadas dos elétrons e  $\mathbf{R}_{\alpha/\beta}$  às s coordenadas dos núcleos (LEVINE, 2000).

Não existe ferramenta matemática para uma solução analítica desta equação diferencial para sistemas multieletrônicos, uma vez que o terceiro termo da Equação 2 não

permite escrever o hamiltoniano total em uma soma de dois hamiltonianos, sendo um eletrônico e outro nuclear ( $\hat{H} = \hat{H}_e + \hat{H}_n$ ). Como consequência, não é possível escrever a função de onda total como um produto de duas funções de ondas, sendo uma dependente apenas das coordenadas eletrônicas e a outra dependente apenas de coordenadas nucleares ( $\Psi = \psi(\mathbf{r}).X(\mathbf{R})$ ). Portanto, como não é possível usar o método de separação de variáveis para resolver esta equação diferencial, faz-se necessário recorrer a métodos de aproximação (SZABO; OSTLUND, 1996).

## 2.2 Aproximação de Born-Oppenheimer

Uma aproximação fundamental para química quântica, empregada em quase todos os métodos de resolução da equação de Schrödinger, é a proposta por Born – Oppenheimer. A ideia central desta aproximação é considerar os elétrons movimentando em um campo formado por núcleos fixos, isto pelo fato dos núcleos serem bem mais pesados que os elétrons, e então, movimentarem mais lentamente (SZABO; OSTLUND, 1996). Com esta aproximação, o hamiltoniano pode ser simplificado, conforme Equação (3), em que a energia cinética dos núcleos é considerada nula e o termo de repulsão núcleo-núcleo se torna constante (SZABO; OSTLUND, 1996).

$$\hat{H} = -\frac{1}{2} \sum_{i=1}^n \nabla_i^2 - \sum_{i=1}^n \sum_{\alpha=1}^m \frac{Z_\alpha}{|\mathbf{r}_i - \mathbf{R}_\alpha|} + \sum_{i=1}^n \sum_{j>1}^m \frac{1}{|\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j|}. \quad (3)$$

Apesar de ser uma importante aproximação, o termo de repulsão elétron-elétron impede uma resolução desta equação usando o método de separação de variáveis, uma vez que não é possível escrever o hamiltoniano total como um somatório de hamiltonianos monoelétrônicos ( $\hat{H}_e = \hat{h}_1 + \hat{h}_2 + \dots$ ). Sendo assim não é possível escrever a função de onda total do sistema como um produto de funções de ondas monoelétrônicas ( $\Psi = \varphi_1(\mathbf{r}_1) \cdot \varphi_1(\mathbf{r}_2) \dots \varphi_n(\mathbf{r}_n)$ ). Portanto, mais aproximações são necessárias no caso de sistemas multieletrônicos.

### 2.3 Aproximação de Hartree- Fock

Em 1927, Douglas Ryner Hartree fez uma proposta brilhante, considerou o elétron movendo sob ação de um potencial médio formado pelo núcleo e os demais elétrons. Assim, de certa forma, a interação elétron-elétron não está sendo desconsiderada e o hamiltoniano total pode ser descrito pela soma de hamiltonianos monoelétrônicos como mostra a Equação (4). Conseqüentemente, a função de onda total pode ser escrita como um produto de funções de ondas monoelétrônicas, Equação (5).

$$\hat{H}^H = \sum_{i=1}^n \hat{h}_i^H, \quad (4)$$

sendo que:  $\hat{h}_i^H = -\frac{1}{2}\nabla_i^2 - \sum_{\alpha=1}^m \frac{Z_{\alpha}}{|r_j - R_{\alpha}|} + \sum_{j \neq i}^n \int \varphi_j^*(\mathbf{r}) \left| \frac{1}{|r_j - r_i|} \right| \varphi_j(\mathbf{r}) dr,$

$$\Psi(\mathbf{r}) = \varphi_1^i(\mathbf{r}_1)\varphi_2^i(\mathbf{r}_2) \dots \varphi_n^i(\mathbf{r}_n). \quad (5)$$

Apesar de ser possível a resolução da equação pelo método de separação de variáveis, (SZABO; OSTLUND, 1996), o método de Hartree possui algumas limitações, tais como:

- i) Os elétrons são distinguíveis, isto porque como a função de onda de n elétrons foi construída como produto de funções de ondas, está considerando que o elétron 1 ocupa o orbital 1, o elétron 2 ocupa o orbital 2 e assim sucessivamente (SZABO; OSTLUND, 1996);
- ii) A função de onda de Hartree não é antissimétrica, isto é, a função de onda não muda de sinal quando permuta os elétrons, não obedecendo o princípio da exclusão de Pauli que afirma que dois elétrons não podem ocupar o mesmo estado quântico simultaneamente (SZABO; OSTLUND, 1996);
- iii) No modelo de Hartree os elétrons são considerados completamente descorrelacionados, isto é, o movimento do elétron 1 é independente dos demais elétrons (SZABO; OSTLUND, 1996).

A fim de solucionar os problemas apresentados pelo método de Hartree, em 1930 Vladimir Fock propõe o uso de função de onda antissimétricas[ através da combinação linear de duas funções (SZABO; OSTLUND, 1996). Esta combinação linear pode ser representada pelo determinante de Slater conforme Equação (6):

$$\Psi = \frac{1}{\sqrt{2}} \begin{vmatrix} \phi_i(r_1) & \dots & \phi_i(r_1) \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ \phi_i(r_n) & \dots & \phi_i(r_n) \end{vmatrix}. \quad (6)$$

Aplicando a função de onda da Equação (6) e o Hamiltoniano da Equação (3), na equação de Schorödinger, depois de alguns rearranjos matemáticos, obtém-se a equação da energia do método Hartree-Fock, dada pela Equação (7):

$$\begin{aligned} E = \sum_i^n \left\langle \phi_i \left| -\frac{1}{2} \nabla_i^2 - \sum_{\alpha=1}^m \frac{Z_\alpha}{|\mathbf{r}_i - \mathbf{R}_\alpha|} \right| \phi_i \right\rangle \\ + \frac{1}{2} \sum_i^n \sum_j^n \left( \left\langle \phi_i^{(1)} \phi_j^{(2)} \left| \frac{1}{|\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j|} \right| \phi_i^{(1)} \phi_j^{(2)} \right\rangle \right. \\ \left. - \left\langle \phi_i^{(1)} \phi_j^{(2)} \left| \frac{1}{|\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j|} \right| \phi_j^{(2)} \phi_i^{(1)} \right\rangle \right). \quad (7) \end{aligned}$$

Nesta equação, utilizou-se a notação *bra-ket* para simplificar. No primeiro somatório, o termo inicial representa a energia cinética do elétron e o segundo termo representa a energia de atração núcleo-elétron. No segundo somatório, têm-se dois termos, o primeiro representa a energia de Coulomb, cujo significado físico é a interação clássica elétron-elétron. O último termo representa a energia de troca que surge com a antissimetria da função de ondas através do determinante de Slater. O sentido físico ainda não é bem esclarecido, mas pode se inferir que este termo impede que dois elétrons de mesmo spin ocupem o mesmo lugar no espaço, formando o chamado buraco de férmion (SZABO; OSTLUND, 1996).

Como o potencial de Hartree-Fock depende de todos os orbitais, o processo para determinar a energia é iterativo. Inicia-se com uma suposição do *spin* orbital, calcula o potencial de Hartree-Fock, formando o operador de Fock e suas equações, que resultaram em um novo conjunto de *spin* orbital e energia. Este novo *spin* orbital é usado para melhorar o

potencial de HF e o procedimento se repete até que a energia convirja (SZABO; OSTLUND, 1996).

O método de Hartree-Fock consegue resolver os problemas encontrados no método de Hartree: de antissimetrização da função de onda e de indistinguibilidade dos elétrons. Contudo, não leva em consideração a energia de correlação eletrônica do sistema (SZABO; OSTLUND, 1996).

### 2.3.1 Equações de Hartree-Fock-Roothan

As equações de Hartree-Fock podem ser resolvidas numericamente para sistemas pequenos como átomos, não sendo possível sua resolução analítica para moléculas. Na tentativa de ampliar a aplicação do método para sistemas maiores, Roothan propõe usar uma combinação linear de funções de bases no lugar dos orbitais espaciais, veja a Equação (8) (SZABO; OSTLUND, 1996):

$$\varphi_i = \sum_{k=1}^i C_{si} \phi_s. \quad (8)$$

Sendo que  $C_{si}$  representa o coeficiente, que deve ser ajustado iterativamente e  $\phi_s$  a função de base que em geral são do tipo Slater e gaussianas.

Não se tem dúvida de que a ideia de Roothan tenha contribuído significativamente para a aplicação do método de Hartree-Fock, porém o método ainda possui algumas dificuldades. O processo de iteração de configuração deste método leva à solução da função de onda exata, o que é positivo por um lado, pois torna possível obter todos os observáveis. Por outro lado, o número de iterações de configuração aumenta de acordo com a quantidade de elétrons do sistema (SZABO; OSTLUND, 1996), o que demanda muito tempo computacional para sistemas com muitos elétrons.

## 2.4 DFT

Embora a metodologia de Hartree-Fock tenha tido uma boa aceitação, possui algumas dificuldades e limitações, como já foi discutido na seção anterior. Por isso, surgem novas metodologias para obter a energia de sistemas moleculares. Um dos métodos de aproximação que vem sendo empregado é a DFT. A grande novidade deste método é

substituir a função de onda de  $n$  elétrons, portanto,  $3n$  dimensões, pela densidade eletrônica  $\rho(\mathbf{r})$ , de 3 dimensões, como será detalhado a seguir.

#### 2.4.1 Modelo de Thomas-Fermi

Em 1927- 1928, Thomas e Fermi tiveram a ideia de usar a densidade eletrônica como variável básica para calcular a energia fundamental de um sistema. No modelo desenvolvido por Thomas e Fermi, os elétrons são considerados como gases *férmions*, isto é, um sistema de partículas não interagente (PARR, R. G.; YANG, 1989). O objetivo era encontrar uma metodologia de aproximação para obter as propriedades descritas pelo hamiltoniano multieletrônico dado pela Equação (3), que nesta teoria é mais comumente escrito como mostra a Equação (9):

$$\hat{H} = -\frac{1}{2} \sum_{i=1}^n \nabla_i^2 - \sum_{i=1}^n v(\mathbf{r}_i) + \sum_{i<j}^n \frac{1}{|\mathbf{r}_{ij}|}. \quad (9)$$

O segundo termo da Equação (9) refere-se ao potencial externo, isto é, o potencial de atração núcleo-elétron dado pela Equação (10):

$$v(\mathbf{r}_i) = \sum_{\alpha}^m \frac{Z_{\alpha}}{|\mathbf{R}_{\alpha} - \mathbf{r}_i|}. \quad (10)$$

Thomas e Fermi desenvolveram o termo da energia cinética dos elétrons ( $T_e$ ), a partir da suposição de que os elétrons estão distribuídos uniformemente em um espaço de fase hexa-dimensional, na razão de dois elétrons para cada elemento de volume  $h^3$  (PARR, R. G.; YANG, 1989), resultando na Equação (11):

$$T_e[\rho] = \frac{3}{10} (3\pi^2)^{\frac{2}{3}} \int \rho(\mathbf{r})^{\frac{5}{3}} d\mathbf{r}. \quad (11)$$

Em relação à repulsão elétron-elétron, Thomas e Fermi consideraram apenas a interação colombiana, como descrito na Equação (12):

$$J[\rho] = \frac{1}{2} \int \frac{\rho(\mathbf{r}_1)\rho(\mathbf{r}_2)}{|\mathbf{r}_1 - \mathbf{r}_2|} d\mathbf{r}_1 d\mathbf{r}_2. \quad (12)$$

Assim, a energia total do sistema pode ser descrita conforme a Equação (13) (PARR, R. G.; YANG, 1989). Observe que a energia pode ser obtida usando apenas a densidade eletrônica como a variável básica, bem como os termos de troca e correlação são completamente negligenciados:

$$E_{TF}[\rho] = C_F \int \rho(\mathbf{r})^{\frac{5}{3}} d\mathbf{r} + Z \int \frac{\rho(\mathbf{r})}{r} d\mathbf{r} + \frac{1}{2} \int \frac{\rho(\mathbf{r}_1)\rho(\mathbf{r}_2)}{|\mathbf{r}_1 - \mathbf{r}_2|} d\mathbf{r}_1 d\mathbf{r}_2, \quad (13)$$

sendo que  $C_F = \frac{3}{10} (3\pi^2)^{\frac{2}{3}}$ . Para minimizar a energia, usa-se a condição dada por:  $N[\rho(\mathbf{r})] = \int \rho(\mathbf{r}) d\mathbf{r}$ , em que  $N$  representa o número total de elétrons do sistema. Usando o multiplicador de Lagrange, tem-se:

$$\delta \left[ E_{TF}[\rho] - \mu \left( N - \int \rho(\mathbf{r}) d\mathbf{r} \right) \right] = 0.$$

O que fornece o potencial químico ( $\mu$ ):

$$\mu = \frac{5}{3} C_F \rho(\mathbf{r})^{\frac{2}{3}} - \frac{Z}{r} + \int \frac{\rho(\mathbf{r}_2)}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}_2|} d\mathbf{r}_2. \quad (14)$$

Este método proposto por Thomas e Fermi não teve muito sucesso, a Equação (14), quando aplicada a moléculas, não consegue prever as ligações químicas existentes, as estruturas de camadas também não podem ser reproduzidas e não consideram as informações de troca e correlação. Portanto, os resultados dos cálculos não são bons, além de faltar justificativa plausível para o uso da densidade eletrônica como funcional da densidade. Apesar de todas as limitações, este método foi o passo inicial para o desenvolvimento da DFT (PARR, R. G.; YANG, 1989).

#### 2.4.2 Os Teoremas de Hohenberg e Kohn

Thomas e Fermi propuseram obter a energia através da densidade eletrônica, porém só em 1964 que Hohenberg e Kohn evidenciaram através de dois teoremas que se pode

usar a densidade eletrônica como variável básica para determinar a energia fundamental do sistema (LEVINE, 2000).

Ao analisar o hamiltoniano da Equação (9), percebe-se que conhecendo o número total de elétrons  $N$  e a distribuição nuclear dada pelo potencial externo  $v$ , a função de onda eletrônica e a energia do sistema são determinadas como solução da equação de Schrödinger. O que significa dizer que é possível determinar as propriedades do sistema conhecendo  $N$  e  $v$  (PARR, R. G.; YANG, 1989).

Os teoremas de Hohenberg e Kohn mostram que se pode usar a densidade eletrônica como variável básica, ao invés de  $N$  e  $v$ . Isto ocorre porque através da densidade eletrônica é possível determinar o número total de elétrons e o potencial externo. O número total de elétrons pode ser obtido pela integral da densidade eletrônica no espaço total:  $N = \int \rho(\mathbf{r})d\mathbf{r}$ . Quanto ao potencial externo, Hohenberg e Kohn provaram o teorema fundamental da DFT: *o potencial externo  $v$  é univocamente determinado, a menos de uma constante física aditiva irrelevante, pela densidade eletrônica  $\rho$*  (LEVINE, 2000).

### 1º Teorema:

A prova deste teorema foi feita por um absurdo, o qual afirma que dois potenciais externos  $v_a$  e  $v_b$ , que diferem apenas por uma constante, isto é,  $v_a \neq v_b + K$ , produzem a mesma densidade eletrônica  $\rho$ . Isto para um estado fundamental degenerado. Se os potenciais são diferentes, então, tem-se hamiltonianos diferentes:  $\hat{H}_a$  e  $\hat{H}_b$ . Portanto, funções de ondas diferentes:  $\Psi_a$  e  $\Psi_b$ , e energias diferentes:  $E_a$  e  $E_b$ . Aplicando o princípio variacional de *Rayleigh-Ritz* como mostra a Equação 15 (SZABO; OSTLUND, 1996), tem que:

$$E_a < \langle \Psi_b | \hat{H}_a | \Psi_b \rangle. \quad (15)$$

Somando e subtraindo  $\hat{H}_b$  na integral, não altera o resultado, fizeram-se alguns rearranjos matemáticos até se obter a Equação (16):

$$E_a < \langle \Psi_b | \hat{H}_a | \Psi_b \rangle = \langle \Psi_b | \hat{H}_a - \hat{H}_b + \hat{H}_b | \Psi_b \rangle = \langle \Psi_b | \hat{H}_b | \Psi_b \rangle + \langle \Psi_b | \hat{H}_a - \hat{H}_b | \Psi_b \rangle;$$

$$E_a < E_b + \int \rho(\mathbf{r})[v_a - v_b]d\mathbf{r}. \quad (16)$$

Agora usando a função de onda tentativa  $\Psi_a$  para o hamiltoniano  $\hat{H}_b$ :

$$E_b < \langle \Psi_a | \hat{H}_b | \Psi_a \rangle = \langle \Psi_a | \hat{H}_b - \hat{H}_a + \hat{H}_a | \Psi_a \rangle = \langle \Psi_a | \hat{H}_a | \Psi_a \rangle + \langle \Psi_a | \hat{H}_b - \hat{H}_a | \Psi_a \rangle$$

$$E_b < E_a - \int \rho(\mathbf{r})[v_a - v_b]d\mathbf{r}. \quad (17)$$

Somando as equações (16) e (17), obtêm-se:

$$E_a + E_b < E_a + E_b. \quad (18)$$

Observe que o fato de supor que potenciais externos diferentes produzem uma mesma densidade resulta na Equação (18), que notoriamente é uma contradição. O que leva a concluir que existe uma relação bionívoca entre densidade eletrônica e potencial externo. Portanto, existe um único potencial que produz a densidade  $\rho(\mathbf{r})$ , e já sabemos que o número total de elétrons pode ser reproduzido pela integração de  $\rho(\mathbf{r})$ . O que significa dizer que a densidade eletrônica determina o hamiltoniano, conseqüentemente a função de onda e todas as propriedades do sistema (LEVINE, 2000), conforme o esquema que se segue:

$$\rho(\mathbf{r}) \rightarrow \left\{ \begin{matrix} N \\ v(\mathbf{r}) \end{matrix} \right\} \rightarrow \hat{H} \rightarrow \Psi \rightarrow \text{todos os observáveis!!!}$$

A energia total do sistema pode ser descrita como mostra a Equação (19) e Equação (20):

$$E_v[\rho] = V_{ne}[\rho] + T[\rho] + V_{ee}[\rho]; \quad (19)$$

$$E_v[\rho] = \int \rho(\mathbf{r})v(\mathbf{r})d\mathbf{r} + F_{HK}[\rho]. \quad (20)$$

Sendo que:

$$F_{HK}[\rho] = T[\rho] + V_{ee}[\rho].$$

O funcional de Hohenberg e Khon ( $F_{HK}[\rho]$ ) não depende do potencial externo, mas apenas dos elétrons, portanto, conhecido como funcional universal. O termo  $T[\rho]$

representa a energia cinética dos elétrons e  $V_{ee}[\rho]$  representa o potencial de repulsão elétron-elétron, incluindo o termo clássico  $J[\rho]$  e termo não clássico (PARR, R. G.; YANG, 1989).

## 2º Teorema:

O segundo teorema de Hohenberg e Kohn estabelece o princípio variacional para DFT, isto é, este teorema é a prova de que para uma função densidade tentativa  $\tilde{\rho}(\mathbf{r})$  que satisfaça as condições de  $N = \int \tilde{\rho}(\mathbf{r})d\mathbf{r}$  e  $\tilde{\rho}(\mathbf{r}) \geq 0$ , a desigualdade:  $E_0 < E_v[\tilde{\rho}(\mathbf{r})]$  deve ser mantida (LEVINE, 2000). Considerando que  $\rho(\mathbf{r})$  é a densidade eletrônica do estado fundamental que pode minimizar o funcional  $E_0[\rho(\mathbf{r})]$  (PARR, R. G.; YANG, 1989).

O primeiro teorema garante que  $\tilde{\rho}(\mathbf{r})$  determina seu próprio  $\tilde{v}$ . Aplicando o princípio variacional de Rayleigh-Ritz tem que:

$$\begin{aligned} E_0[\rho(\mathbf{r})] &= \langle \Psi | \hat{H} | \Psi \rangle \leq \langle \tilde{\Psi} | \hat{H} | \tilde{\Psi} \rangle. \\ E_0[\rho(\mathbf{r})] &= \langle \Psi | \hat{v} + \hat{T} + \widehat{V}_{ee} | \Psi \rangle \leq \langle \tilde{\Psi} | \hat{v} + \hat{T} + \widehat{V}_{ee} | \tilde{\Psi} \rangle. \\ E_0 &= \langle \Psi | \hat{T} + \widehat{V}_{ee} | \Psi \rangle + \int \rho(\mathbf{r})v(\mathbf{r})d\mathbf{r} \leq \langle \tilde{\Psi} | \hat{T} + \widehat{V}_{ee} | \tilde{\Psi} \rangle + \int \rho(\mathbf{r})v(\mathbf{r})d\mathbf{r}. \end{aligned}$$

Portanto:

$$E_0[\rho(\mathbf{r})] \leq E_0[\tilde{\rho}(\mathbf{r})]. \quad (21)$$

A Equação (21) mostra que a energia obtida a partir de uma densidade eletrônica tentativa é sempre maior que a energia obtida usando a verdadeira densidade eletrônica do sistema  $\rho(\mathbf{r})$ , havendo igualdade, quando:  $\rho(\mathbf{r}) = \tilde{\rho}(\mathbf{r})$ . Considerando  $E_0[\rho(\mathbf{r})]$  diferenciável, o princípio variacional requer que o princípio estacionário seja satisfeito (PARR, R. G.; YANG, 1989), isto é:

$$\delta\{E_0[\rho(\mathbf{r})] - \mu[\rho(\mathbf{r})d\mathbf{r} - N]\} = 0.$$

Resultando na Equação (22), em que  $\mu$  representa o potencial químico.

$$\mu = \frac{\delta E_0[\rho(\mathbf{r})]}{\delta \rho(\mathbf{r})} = v(\mathbf{r}) + \frac{\delta F_{HK}[\rho(\mathbf{r})]}{\delta \rho(\mathbf{r})}. \quad (22)$$

Os dois teoremas de Hohenberg e Kohn provam que a densidade eletrônica pode ser usada como variável básica para obter a energia do estado fundamental.

### 2.4.3 O Método de Kohn-Sham

Os teoremas de Hohenberg – Kohn dizem que é possível calcular propriedades moleculares a partir da densidade eletrônica do estado fundamental, porém não deixou explícito como calcular a energia, uma vez que o funcional  $F_{HK}[\rho]$  não é conhecido. Também não há informação de como obter a densidade eletrônica sem determinar a função de onda. Em 1965, Kohn-Sham (KOHN; SHAM, 1965) desenvolveram um método tanto para determinar a energia a partir da densidade eletrônica, como para determinar a própria densidade eletrônica.

A ideia de Kohn – Sham foi considerar um sistema fictício não interagente (não considera as interações elétron-elétron), cuja densidade eletrônica do referido sistema ( $\rho_s(\mathbf{r})$ ) seja igual a densidade eletrônica do estado fundamental ( $\rho_0(\mathbf{r})$ ). Isso pode ser obtido construindo um sistema fictício, em que um elétron se movimenta em um potencial médio formado pelos núcleos e elétrons. Construir o hamiltoniano deste elétron resolve a equação de Schrödinger e obtém-se a função de onda monoelétrica. A partir da função de onda monoelétrica consegue-se a função de onda total, de forma que esta função de onda reproduza a exata densidade eletrônica (PARR, R. G.; YANG, 1989).

O hamiltoniano e a função de onda do sistema não interagente pode ser descrito pela Equação (23) e Equação (24), respectivamente.

$$\hat{H}_s = \sum_{i=1}^n \left[ -\frac{1}{2} \nabla_i^2 - v_s(r_i) \right] \equiv \sum_i^n \hat{h}_i^{KS}. \quad (23)$$

$$\Psi(\mathbf{r}_1 \dots \mathbf{r}_n) = \frac{1}{\sqrt{n!}} \det |\phi_1(\mathbf{r}_1) \cdot \phi_2(\mathbf{r}_2) \dots \phi_n(\mathbf{r}_n)|. \quad (24)$$

Considerando o termo  $\phi_i$  como a função de onda não degenerada, Equação (24), pode -se obter a densidade eletrônica através da Equação (25).

$$\rho_s = \sum_{i=1}^n |\phi_i(\mathbf{r})|^2. \quad (25)$$

Neste sistema fictício não interagente a energia cinética é representada pela Equação (26):

$$T_s[\rho(\mathbf{r})] = \left\langle \phi_i \left| -\frac{1}{2} \nabla_i^2 \right| \phi_i \right\rangle. \quad (26)$$

Uma grande ideia de Kohn-Sham foi supor que a diferença entre energia cinética obtida do sistema não interagente, ( $T_s[\rho(\mathbf{r})]$ ), com a energia obtida do sistema interagente  $T[\rho(\mathbf{r})]$ , é pequena (KOHN; SHAM, 1965), podendo ser escrita conforme a Equação (27):

$$T = T[\rho(\mathbf{r})] - T_s[\rho(\mathbf{r})]. \quad (27)$$

Esta diferença:  $T[\rho(\mathbf{r})] - T_s[\rho(\mathbf{r})]$  recebe o nome de energia de correlação eletrônica.

Considerando um sistema Interagente, o funcional de Hohenberg e Kohn ( $F_{HK}$ ) pode ser formado pelas componentes descritas na Equação (28):

$$F_{HK}[\rho] = T_s[\rho] + T[\rho] - T_s[\rho] + J[\rho] + V_{ee}[\rho] - J[\rho]. \quad (28)$$

Veja na Equação (29), que  $J[\rho]$ , é a interação clássica de Coulomb, e  $V_{ee}[\rho]$  representa a interação total elétron-elétron. Portanto, a diferença  $V_{ee}[\rho] - J[\rho]$  representa a interação total elétron-elétron menos a interação clássica, restando o termo da interação não clássica, denominada interação de troca.

$$J[\rho] = \int \frac{\rho(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} d\mathbf{r}'. \quad (29)$$

Os termos não clássicos, representados pelas diferenças:  $T[\rho] - T_s[\rho]$  e  $V_{ee}[\rho] - J[\rho]$ , comumente são juntados em um único termo, denominado energia de troca e correlação ( $E_{xc}[\rho]$ ). Assim, o funcional de Hohenberg e Kohn pode ser escrito como mostra a Equação (30):

$$F_{HK}[\rho] = T_s[\rho] + J[\rho] + E_{xc}[\rho]. \quad (30)$$

Substituindo a Equação (30) na Equação (22), pode-se obter o potencial químico ( $\mu$ ):

$$\mu = \frac{\delta E_0[\rho(\mathbf{r})]}{\delta \rho(\mathbf{r})} = v(\mathbf{r}) + \frac{\delta T_s[\rho(\mathbf{r})]}{\delta \rho(\mathbf{r})} + \frac{\delta J[\rho(\mathbf{r})]}{\delta \rho(\mathbf{r})} + \frac{\delta E_{xc}[\rho(\mathbf{r})]}{\delta \rho(\mathbf{r})}.$$

O termo  $v(\mathbf{r})$  representa o potencial externo, que juntamente com os termos que representam a interação de Coulomb e o termo que representa a troca e correlação formam o potencial efetivo  $v_{ef}$ , conforme a Equação (31).

$$\mu = v_{ef}(\mathbf{r}) + \frac{\delta T_s[\rho(\mathbf{r})]}{\delta \rho(\mathbf{r})}. \quad (31)$$

Kohn e Sham partem do pressuposto que o potencial fictício ( $v_s$ ) leva a uma densidade eletrônica fictícia  $\rho_s$ , que satisfaz a condição de que  $\rho_s = \rho$ , em que  $\rho$  é a exata densidade eletrônica do estado fundamental para o sistema interagente. Então o potencial fictício ( $v_s$ ) é igual ao potencial efetivo ( $v_{ef}$ ) (KOHN; SHAM, 1965). Assumindo que  $v_s \equiv v_{ef}$ , pode-se obter as equações monoelétrônicas de Kohn-Sham, através da Equação (32). Estas equações devem ser resolvidas iterativamente, uma vez que o potencial efetivo depende da densidade eletrônica  $\rho(\mathbf{r})$ , que por sua vez é obtida dos orbitais  $\phi_i(\mathbf{r})$  (PARR, R. G.; YANG, 1989).

$$\sum_{i=1}^n \left[ -\frac{1}{2} \nabla_i^2 - v_{ef}(r_i) \right] \phi_i(\mathbf{r}) = \varepsilon_i \phi_i(\mathbf{r}) q. \quad (32)$$

A energia total do sistema é dada pela Equação (33):

$$E[\rho] = T_s[\rho] + J[\rho] + E_{xc}[\rho] + \int v(\mathbf{r})\rho(\mathbf{r}), \quad (33)$$

portanto:

$$E[\rho] = \int \rho(\mathbf{r}) \left( -\frac{1}{2} \nabla_i^2 \right) - \frac{1}{2} \int \int \frac{\rho(\mathbf{r})\rho(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} d\mathbf{r}d\mathbf{r}' + E_{xc}[\rho] + \int v(\mathbf{r})\rho(\mathbf{r}). \quad (34)$$

Com alguns rearranjos da Equação (34), pode-se obter a energia total, usando os orbitais de Kohn-Sham, como mostra a Equação (35).

$$E[\rho] = \sum_i^N \varepsilon_i - \int \phi_i \left( -\frac{1}{2} \nabla_i^2 \right) \phi_i - \frac{1}{2} \int \int \frac{\rho(\mathbf{r})\rho(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} d\mathbf{r}d\mathbf{r}' + \int v(\mathbf{r})\rho(\mathbf{r}) + E_{xc}[\rho]. \quad (35)$$

Como dito, o procedimento para encontrar a energia do sistema é iterativo. Utilizando a densidade eletrônica de átomos individuais faz-se uma conjectura da densidade eletrônica molecular, a partir desta densidade calcula-se o potencial efetivo e aplica-se este potencial nas equações de Kohn e Sham. Assim obtém-se os orbitais  $\phi_i^{KS}$ , que são expandidos em termos de funções de bases, em geral, do tipo Slater ou gaussianas, gerando uma nova densidade, que pode gerar um novo potencial efetivo. Este processo se repete até a energia convergir (LEVINE, 2000).

#### 2.4.4 Funcionais de Troca e Correlação

O funcional de troca e correlação exato não é conhecido, então surgem algumas propostas de aproximações deste termo. Em 1965, Kohn e Sham sugeriram a Aproximação Local da Densidade, do inglês Local Density Approximation (LDA) (PARR, R. G.; YANG, 1989). Partindo do pressuposto que a densidade varia lentamente com a posição, a energia de troca e correlação pode ser dada pela Equação (36).

$$E_{xc}^{LDA}[\rho] = \int \rho(\mathbf{r})\varepsilon_{xc}[\rho(\mathbf{r})]d\mathbf{r}. \quad (36)$$

A integral da Equação (36) é sobre todo o espaço e o termo  $\varepsilon_{xc}$  é a energia de troca e correlação de um elétron em um gás homogêneo de elétrons. Minimizando esta energia se obtém:

$$V_{xc}^{LDA} = \frac{\delta E_{xc}^{LDA}[\rho]}{\delta \rho(\mathbf{r})} = \varepsilon_{xc}[\rho(\mathbf{r})] + \rho(\mathbf{r}) \frac{\delta \varepsilon_{xc}[\rho(\mathbf{r})]}{\delta \rho(\mathbf{r})}. \quad (37)$$

O termo  $\varepsilon_{xc}[\rho(\mathbf{r})]$  da Equação (37) pode ser dividido na soma dos termos de troca e correlação  $\varepsilon_{xc}[\rho(\mathbf{r})] = \varepsilon_c[\rho(\mathbf{r})] + \varepsilon_x[\rho(\mathbf{r})]$ . O termo de troca pode ser escrito pela Equação (38). Já o termo de correlação, foi calculado em 1980 por Vosko, Wilk e Nusair, dado por uma equação complexa que não será tratada neste trabalho (LEVINE, 2000).

$$E_x^{LDA}[\rho(\mathbf{r})] = -\frac{3}{4} \left( \frac{3}{\pi} \right)^{\frac{1}{3}} \rho(\mathbf{r})^{\frac{4}{3}} d\mathbf{r}. \quad (38)$$

A LDA é satisfatória para sistemas cuja densidade varia uniformemente, no entanto, na maioria dos sistemas não é isso que ocorre, precisando de cautela quanto ao seu uso. Na LDA, os elétrons de spin opostos ocupam a mesma parte espacial, não produzindo bons resultados para sistemas com elétrons desemparelhados (camada aberta) e moléculas com átomos quase desassociados. Para resolver esta problemática, foi proposto a Aproximação Local de Spin e densidade, do inglês: Local Spin Density Approximation (LSDA), que permite que os elétrons de spin opostos ocupem diferentes partes espaciais. Assim, aplica-se separadamente as densidades eletrônicas:  $\rho_\alpha(\mathbf{r})$  e  $\rho_\beta(\mathbf{r})$  (LEVINE, 2000), podendo escrever o funcional de troca e correlação ( $E_{xc}[\rho]$ ) como mostra a Equação (39).

$$E_{xc}[\rho] = E_{xc}[\rho^\alpha, \rho^\beta]. \quad (39)$$

Neste caso, o potencial de troca e correlação é tratado separadamente. Equação (40):

$$V_{xc}^\alpha = \frac{\delta E_{xc}[\rho^\alpha, \rho^\beta]}{\delta \rho^\alpha} \quad e \quad V_{xc}^\beta = \frac{\delta E_{xc}[\rho^\alpha, \rho^\beta]}{\delta \rho^\beta}. \quad (40)$$

Nas moléculas de camadas fechadas ou com geometria próxima ao equilíbrio, a densidade de spin  $\alpha$  é igual à densidade de spin  $\beta$ , portanto, nestes casos, o método LSDA reduz a LDA. Em algumas situações, tais como: cálculo de momento de dipolo, frequências vibracionais, ou mesmo cálculos envolvendo metais de transição, o método LSDA apresenta resultados melhores do que os obtidos pelo método de Hartree-Fock (LEVINE, 2000).

#### 2.4.4.1 Aproximação Generalizada – Gradiente

Enquanto os métodos LDA e LSDA são aproximações locais, uma vez que consideram uma variação uniforme da densidade, a Aproximação Generalizada – Gradiente, do inglês Generalized Gradient Approximation (GGA), leva em consideração a variação da densidade com a posição (LEVINE, 2000), adicionando o gradiente da densidade no integrando, conforme a Equação (41).

$$E_{xc}^{GGA}[\rho] = \int f(\rho^\alpha(\mathbf{r}), \rho^\beta(\mathbf{r}), \nabla\rho^\alpha(\mathbf{r}), \nabla\rho^\beta(\mathbf{r})) d\mathbf{r}. \quad (41)$$

Os funcionais de troca corrigidos pelo gradiente mais usuais são: Perdew e Wang – 1986 (PW86). Becke– 1988 (B88, Bx88, Becker88 ou B) e PWx91. Já os funcionais de correlação corrigidos pelo gradiente mais usuais são: Lee-Yang-Parr (LYP), Perdew -1986(P86 ou PC (86), Perdew-Wang – 1991 (PW9 ou PWC (9)1) e Becke BC (95) ou (B96). Para realização dos cálculos, podem-se combinar os funcionais de troca e correlação.

A proposta de funcional de correlação e troca feita por Perdew-Burke- Ernzerhof (PBE) (PERDEW; BURKE; ERNZERHOF, 1996) é formalmente mais sucinta, quando comparada com as demais propostas da GGA, e leva a resultados semelhantes aos demais métodos propostos, além de demandar menos tempo computacional. O funcional de troca pode ser escrito conforme a Equação (42):

$$F_x^{PBE} = 1 + k - \frac{k}{1 + \frac{\gamma}{k} S^2}. \quad (42)$$

Em que  $k = 0,084$  e  $\frac{\gamma}{k} = 0,21951$ . O termo:  $S = \frac{\nabla\rho}{2K_F}$ , sendo  $\mathbf{k}_F$  o vetor de onda de Fermi. Como é um método de GGA, o funcional de troca e correlação de PBE leva em consideração o gradiente da densidade, como mostra a Equação (43).

$$E_{xc}^{PBE}[\rho(\mathbf{r}), |\nabla\rho(\mathbf{r})|] = \int \varepsilon_{xc}(\rho, \nabla\rho)\rho(\mathbf{r})d\mathbf{r}. \quad (43)$$

Outros funcionais vastamente utilizados são os híbridos, que combinam a energia de troca de Hartree-Fock e a energia de correlação obtida pelo gradiente corrigido. Um exemplo deste tipo de funcional é o B3LYP (LEE; YANG; PARR, 1988), dado pela Equação (44):

$$E_{xc}^{B3LYP} = (1 - a_0 - a_x)E_x^{LSDA} + a_0E_x^{HF} + a_xE_x^{B88} + (1 - a_c)E_c^{VWN} + a_cE_c^{LYP}. \quad (44)$$

As três primeiras parcelas representam a energia de troca, sendo a primeira a LSDA, a segunda desenvolvida por HF e a terceira por Becker. As duas últimas parcelas referem-se à energia de correlação de Vosko-Wilk-Nusair e Lee-Yang-Parr, respectivamente. Os valores das constantes foram ajustados experimentalmente, sendo  $a_a = 0,20$ ;  $a_x = 0,72$  e  $a_c = 0,81$ . Outros funcionais híbridos que vêm sendo empregados são o M06 e M06-2X (ZHAO; TRUHLAR, 2008). O 2X indica que possui o dobro de funcionais de troca. A parte local dos funcionais M06 e M06-2X depende de três parâmetros: densidade de spin ( $\rho_\alpha$ ), densidade de spin reduzida ( $\chi_\alpha$ ) e densidade de energia cinética de spin ( $\tau_\alpha$ ). O funcional de troca de M06 é dado pela Equação (45):

$$E_x^{M06} = \sum_\alpha \int dr [F_{x\alpha}^{PBE}(\rho_\alpha, \nabla\rho_\alpha) f(w_\alpha) + \varepsilon_{x\alpha}^{LSDA} h_x(\chi_\alpha, Z_\alpha)]. \quad (45)$$

Em que  $F_{x\alpha}^{PBE}$  é a densidade de energia cinética do PBE e  $\varepsilon_{x\alpha}^{LSDA}$  é a aproximação da densidade de spin local para troca.

Já a energia de correlação para spins anti paralelos M06 é dado pela Equação (46):

$$E_c^{\alpha\beta} = \int e_{\alpha\beta}^{UEG} [g_{\alpha\beta}(\chi_\alpha, \chi_\beta) + h_{\alpha\beta}(\chi_{\alpha\beta}, Z_{\alpha\beta})]. \quad (46)$$

As funções  $g_{\alpha\beta}$  e  $h_{\alpha\beta}$  podem ser vistas no trabalho de ZHAO; TRUHLAR, (2008).

## 2.5 Dinâmica Molecular

A dinâmica é uma parte da ciência que estuda a relação entre a força e o movimento dos corpos. As primeiras contribuições foram formuladas no século XVI e no século XVII por Galileu Galilei e Isaac Newton respectivamente. A parte da dinâmica que estuda o comportamento de partículas em função do tempo é denominada dinâmica molecular (DM) (RAPAPORT, 2004).

A dinâmica molecular é uma importante ferramenta, que nos ajuda a interpretar resultados experimentais, prever resultados que não foram identificados experimentalmente, além de compreender os mecanismos implícitos nos complexos processos químicos. Os conhecimentos de DM somados ao desenvolvimento computacional tornou-se uma ferramenta que vem se destacando no estudo teórico de sistemas de partículas (COUTINHO et al., 2015, 2016). As equações de movimento de Newton são resolvidas numericamente para um sistema de partículas, gerando trajetórias, que é uma distribuição de pontos no espaço de fase em função do tempo (ALLEN; TILDESLEY, 1987). Através da trajetória do espaço de fase temos acesso às propriedades do sistema, tanto dinâmicas como termodinâmicas.

O cálculo das forças sobre os átomos é usada para propagá-los no tempo, sendo de fundamental importância na dinâmica, uma vez que a qualidade das forças está diretamente relacionada com a acuracidade das propriedades físicas obtidas da simulação do sistema (BERENDSEN; GRIGERA; STRAATSMA, 1987; SILVA et al., 2010; STILLINGER; RAHMAN, 1974).

A dinâmica molecular clássica envolve o uso de potenciais empíricos. As interações entre as partículas são descritas por funções analíticas que usam parâmetros geométricos empíricos, que são também chamados de campos de força. Em geral, durante a simulação, estes parâmetros empíricos permanecem constantes, economizando assim, tempo computacional. Portanto, este tipo de dinâmica molecular permite realizar simulações por períodos de tempo considerados longos em dinâmica, na escala de nanossegundos, além de conseguir simular grandes sistemas, como enzimas e proteínas (MCCAMMON; GELIN; KARPLUS, 1977; SCHERAGA; KHALILI; LIWO, 2007).

Se por um lado a dinâmica molecular clássica é eficiente quanto ao tempo computacional, por outro lado, possui limitações, uma vez que a maioria dos campos de força são parametrizados de forma específica para um determinado sistema, não produzindo bons resultados se aplicados para um sistema diferente. Além do que, não consegue descrever

propriedades como a polarizabilidade eletrônica e a quebra e formação de ligações químicas. Sendo assim, é necessário que se considere explicitamente os graus de liberdade eletrônicos para superar as limitações da dinâmica molecular clássica (DYKSTRA, 1993; HALGREN; DAMM, 2001), o que pode ser feito com dinâmica molecular *ab initio*.

No presente trabalho, o estudo da GlcN será realizado usando métodos de dinâmica molecular *ab initio*. A precisão da dinâmica molecular *ab initio* depende do nível de teoria usada na obtenção da função de onda do estado fundamental. Um dos métodos mais comumente utilizados é a DFT na formulação de Kohn-Sham (KOHN; SHAM, 1965; MARX, D.; HUTTER, 2009). O processo segue as seguintes etapas: obtém-se a energia de Kohn-Sham para o conjunto de coordenadas eletrônicas, calculam-se as forças sobre os núcleos usando o teorema de Hellman-Feynman, aplicam-se estas forças nas equações de movimento de Newton e, então, se propagam os núcleos no tempo.

Merecem destaque os três principais métodos de dinâmica molecular *ab initio*: a dinâmica molecular de Erhenfest (DME), a dinâmica molecular de Born-Oppenheimer (BOMD) e a DMCP (HASSANALI et al., 2014; MARX, D.; HUTTER, 2009).

### 2.5.1 Dinâmica Molecular de Erhenfest (DME)

Na dinâmica proposta por Erhenfest (1927), o núcleo é tratado classicamente usando as equações de movimento de Newton e os elétrons são tratados quanticamente através da equação de Schrödinger dependente do tempo. Pelo fato de os elétrons serem muito rápidos quando comparados com os núcleos, os passos devem ser bem pequenos, o que é uma desvantagem desta dinâmica. Entretanto, a DME tem a vantagem de minimizar a função de onda uma única vez e a mesma ser propagada ao longo da trajetória (EHRENFEST, 1927). Nesta dinâmica, o processo é diabático. Portanto, o sistema pode iniciar em uma superfície de Born-Oppenheimer, evoluir por algum tempo nesta superfície e depois passar para outra superfície.

### 2.5.2 Dinâmica Molecular de Born – Oppenheimer (BOMD)

A BOMD divide-se em quântica e semi-quântica, sendo que na quântica os núcleos e elétrons são tratados quanticamente, um tipo de dinâmica ainda intratável, considerando os recursos computacionais que dispomos. Já, a BOMD semi-quântica é a usada

na prática. Os núcleos são tratados classicamente e os elétrons quanticamente. Na BOMD, a propagação nuclear e a determinação do estado fundamental eletrônico são duas etapas completamente independentes, assim a cada passo a função de onda deve ser minimizada e realizado o cálculo de estrutura, o que demanda muito tempo computacional, ou seja, essa é uma desvantagem deste método. Por outro lado, possui a vantagem do passo dessa dinâmica ser relativamente grande, da ordem de 10 atu (MARX, D.; HUTTER, 2009).

### 2.5.3 DMCP

A DMCP foi proposta pelos pesquisadores: Roberto Car e Michelle Parrinello, em 1985 (CAR; PARRINELLO, 1985). Esta dinâmica une a vantagem da DME, que é minimizar a função de onda apenas uma vez e mantê-la no estado fundamental durante a propagação dos núcleos com a vantagem da BOMD, que permite usar passos de integração relativamente grandes (SHANCHES NETO et al., 2018). Na DMCP, o conjunto: núcleos e elétrons da camada interna formam o subsistema iônico e são tratados classicamente, já os elétrons da camada externa, que participam efetivamente das interações/reações são tratados quanticamente.

Car e Parrinello propuseram a junção do tratamento dos subsistemas dos íons e dos elétrons, formulando para isso uma langrangeana estendida, conforme a Equação (47):

$$\begin{aligned} \mathcal{L}_{CP} = & \sum_{\alpha} \frac{1}{2} M_{\alpha} \dot{\mathbf{R}}_{\alpha}^2 - \langle \varphi_i(\mathbf{r}, \mathbf{R}) | \mathcal{H}(\mathbf{r}, \mathbf{R}) \varphi_i(\mathbf{r}, \mathbf{R}) \rangle + \mu \sum_i \langle \dot{\varphi}_i(\mathbf{r}; \mathbf{R}) | \dot{\varphi}_i(\mathbf{r}; \mathbf{R}) \rangle \\ & + \sum_{i,j} \Lambda_{ij} (\langle \varphi_i(\mathbf{r}) | \varphi_j(\mathbf{r}) \rangle - \delta_{ij}). \end{aligned} \quad (47)$$

O primeiro termo da lagrangeana refere-se à energia cinética do núcleo, subsistema iônico, sendo que  $M_{\alpha}$  representa a massa do núcleo e  $\dot{\mathbf{R}}_{\alpha}$  representa as velocidades iônicas. O segundo termo é tratado quanticamente (diferentemente de uma lagrangeana clássica), fornecendo a energia potencial de Kohn – Sham, obtida através da DFT (KOHN; SHAM, 1965). O terceiro termo foi uma adição *ad hoc*, sendo a energia cinética eletrônica fictícia, cuja função é propagar a função de onda eletrônica. O parâmetro  $\mu$ , que surge no terceiro termo, é chamado de massa fictícia e tem como função manter a adiabaticidade do sistema, isto é, durante a propagação temporal precisa garantir que a função de onda otimizada

manter-se-á na superfície de Born-Oppenheimer e que não haverá troca entre as energias cinéticas iônicas e eletrônicas. O último termo representa a restrição holonômica de ortonormalidade da função de onda. Sendo  $\Lambda_{ij}$  o multiplicador de Lagrange e  $\delta_{ij}$  o vínculo que garante a ortonormalidade (MARX, D. ;HUTTER, 2009).

Usando o formalismo da teoria de Kohn – Sham, pode-se reescrever a langrangeana estendida, que faz uma junção entre o tratamento clássico dos núcleos e o tratamento quântico dos elétrons, ficando no formato da Equação (48):

$$\begin{aligned} \mathcal{L}_{CP} = & \sum_{\alpha} \frac{1}{2} M_{\alpha} \dot{\mathbf{R}}_{\alpha}^2 - E_{KS}[\varphi_i, \mathbf{R}] + \mu \sum_i \langle \dot{\varphi}_i(\mathbf{r}; \mathbf{R}) | \dot{\varphi}_i(\mathbf{r}; \mathbf{R}) \rangle \\ & + \sum_{i,j} \Lambda_{ij} (\langle \varphi_i(\mathbf{r}) | \varphi_j(\mathbf{r}) \rangle - \delta_{ij}). \end{aligned} \quad (48)$$

Existe um teorema na física clássica que diz que a trajetória seguida por um sistema físico é aquela que minimiza o funcional de ação. Portanto, a partir do funcional de ação construído dado pela Equação (49), obtêm-se as equações de movimento aplicando a equação de Euler – Lagrange, Equação (50) na Langrangeana de Car – Parrinello, Equação (48), com a finalidade de minimizar o funcional de ação.

$$S = \int \mathcal{L}[\varphi(t), \dot{\varphi}(t), R(t), \dot{R}(t), t] dt, \quad (49)$$

$$\frac{d}{dt} \frac{\delta \mathcal{L}}{\delta \dot{q}} - \frac{\delta \mathcal{L}}{\delta q} = 0, \quad (q = \mathbf{R}_i, \dot{\varphi}_i^*). \quad (50)$$

Ao analisar este procedimento, percebe-se que é o mesmo realizado para obter as equações de movimento da mecânica clássica, só que neste caso é realizado para as coordenadas nucleares e para os orbitais. Como resultado, as equações de movimento para o núcleo e para o elétron são dadas pelas Equação (51) e Equação (52), respectivamente.

$$M_{\alpha} \ddot{\mathbf{R}}_{\alpha} = \mathbf{F}_{\alpha} = - \frac{\partial E_{KS}[\mathbf{R}_{\alpha}, \varphi_i]}{\partial \mathbf{R}_{\alpha}}; \quad (51)$$

$$\mu_{\alpha} \ddot{\varphi}_i = - \frac{\delta E_{KS}[\mathbf{R}_{\alpha}, \varphi_i]}{\delta \varphi_i^*} + \sum_j \Lambda_{ij} \varphi_j. \quad (52)$$

A Equação (52) pode ser desenvolvida aplicando a DFT, como mostra a Equação (53):

$$\frac{\delta E_{KS}[\mathbf{R}_\alpha, \varphi_i]}{\delta \varphi_i^*} = -h^{KS} \varphi_i(t). \quad (53)$$

Sendo o termo  $h^{KS}$  o hamiltoniano de Kohn e Sham.

As equações (51) e (52) são idênticas às equações de Newton para a força, em que  $M$  representa a massa do núcleo e  $\mu$  a massa fictícia que precisa ser ajustada para garantir a adiabaticidade do sistema. Já o termo  $\sum_j \Lambda_{ij} \varphi_j$  da Equação (52), refere-se à restrição de ortonormalidade para funções de ondas eletrônicas. Esta restrição, em geral, é imposta apenas para os orbitais, não sendo adotada para a movimentação nuclear, para que haja conservação da energia, conforme a Equação (54). Nos instantes em que o núcleo esteja fixo, os multiplicadores de Lagrange devem variar ao longo do tempo (CAR; PARRINELLO, 1985; MARX, D. ;HUTTER, 2009).

$$E_{cons} = \frac{1}{2} \sum_\alpha M_\alpha \dot{\mathbf{R}}_\alpha^2 + E_{KS}[\varphi_i, \mathbf{R}] + \mu \sum_i \langle \dot{\varphi}_i(\mathbf{r}; \mathbf{R}) | \dot{\varphi}_i(\mathbf{r}; \mathbf{R}) \rangle. \quad (54)$$

Uma vez que as equações de movimento fornecem a aceleração, deve-se utilizar algum algoritmo para integrar estas equações e assim obter a trajetória do sistema.

### 2.5.3.1 Algoritmo de Verlet e Velocity Verlet

Um dos métodos utilizados com a finalidade de gerar trajetórias em dinâmica molecular é o método de integração por diferenças finitas, que é um procedimento matemático cuja ideia básica é: usar a série de Taylor para obter uma fórmula da derivação da função. Existem vários algoritmos que integram as equações de movimento usando este método, dentre eles podemos destacar: Verlet (usado no programa *Quantum Espresso*) (GIANNOZZI et al., 2009; VERLET, 1967, 1968), Velocity Verlet (usado no programa CPMD) (CAR; PARRINELLO, 1985) e Leap-Frog (usado no programa Hyperchem).

Car-Parrinello, a princípio, utilizaram o algoritmo de Verlet (CAR; PARRINELLO, 1985) para obter a trajetória do sistema. O objetivo deste algoritmo é determinar a posição da partícula no intervalo  $t + \delta t$ . Para isso, faz-se o uso da expansão de Taylor, conforme mostram as equações: Equação (55) e Equação (56).

$$\mathbf{r}(t + \delta t) = \mathbf{r}(t) + \dot{\mathbf{r}}(t)\delta t + \frac{1}{2} \ddot{\mathbf{r}}(t)\delta t^2 + \frac{1}{3!} \dddot{\mathbf{r}}(t)\delta t^3 + O((\delta t^4)); \quad (55)$$

$$\mathbf{r}(t - \delta t) = \mathbf{r}(t) - \dot{\mathbf{r}}(t)\delta t + \frac{1}{2} \ddot{\mathbf{r}}(t)\delta t^2 - \frac{1}{3!} \dddot{\mathbf{r}}(t)\delta t^3 + O((\delta t^4)). \quad (56)$$

Somando as equações (55) e (56), obtém-se a Equação (57):

$$\mathbf{r}(t + \delta t) = 2\mathbf{r}(t) - \mathbf{r}(t - \delta t) + \dot{\mathbf{r}}(t)\delta t^2 + O((\delta t^4)). \quad (57)$$

Na Equação (57),  $\ddot{\mathbf{r}}$  é a aceleração. A segunda Lei de Newton mostra que  $\mathbf{F} = m \cdot \ddot{\mathbf{r}}$ , então:

$\ddot{\mathbf{r}} = \frac{\mathbf{F}}{m}$ . Substituindo na Equação (57), tem-se o resultado apresentado na Equação (58):

$$\mathbf{r}(t + \delta t) = 2\mathbf{r}(t) - \mathbf{r}(t - \delta t) + \frac{\mathbf{F}}{m}(\delta t)^2 + O((\delta t^4)). \quad (58)$$

A Equação (58) representa o algoritmo de Verlet para determinar a posição no instante  $(t + \delta t)$ . O erro da série está na quarta potência, portanto, é um método bastante simples e acurado. A força que aparece na Equação (56) pode ser determinada usando:  $\mathbf{F} = -\nabla V(\mathbf{r})$ . Sendo  $\nabla V(\mathbf{r})$  o gradiente da energia potencial na posição  $\mathbf{r}$ .

O algoritmo da velocidade pode ser obtido subtraindo as equações (55) e (56), obtendo assim a Equação (59).

$$\mathbf{r}(t + \delta t) - \mathbf{r}(t - \delta t) = 2\dot{\mathbf{r}}(t)\delta t + O((\delta t^3)). \quad (59)$$

Substituindo a representação  $\dot{\mathbf{r}}$  por  $\mathbf{v}(t)$  e fazendo alguns rearranjos, chega-se à Equação (60).

$$\mathbf{v}(t) = \frac{\mathbf{r}(t + \delta t) - \mathbf{r}(t - \delta t)}{2\delta t}. \quad (60)$$

Neste algoritmo, o erro está na terceira potência, sendo eficiente e bem popular em simulação. Contudo, tem a desvantagem de só calcular as velocidades no instante  $t$  após obter as posições no instante  $t + \delta t$ .

O algoritmo Velocity Verlet foi introduzido para que as posições e velocidades sejam calculadas no mesmo instante, sendo uma vantagem frente ao algoritmo de Verlet. Com

este aprimoramento possibilita o cálculo de pressões constantes, por exemplo, em que as forças dependem da velocidade no instante  $t$ . Assim, as posições  $\mathbf{r}$  no instante  $(t + \delta t)$  são derivadas usando a expansão de Taylor, conforme foi feito para a Equação (55). Substituindo o termo  $\dot{\mathbf{r}}$  por  $\mathbf{v}(t)$ , obtém-se a Equação (61):

$$\mathbf{r}(t + \delta t) = \mathbf{r}(t) + \mathbf{v}(t)\delta t + \frac{1}{2} \ddot{\mathbf{r}}(t)\delta t^2 + \frac{1}{3!} \dddot{\mathbf{r}}(t)\delta t^3 + 0((\delta t^4)). \quad (61)$$

A Equação (62) mostra a velocidade no instante  $(t + \delta t)$  obtida da derivada da Equação (61).

$$\mathbf{v}(t + \delta t) = \mathbf{v}(t) + \mathbf{a}(t)\delta t + \frac{1}{2} \dot{\mathbf{a}}(t)\delta t^2. \quad (62)$$

O termo  $\dot{\mathbf{a}}(t)$  da Equação (62) pode ser escrito em termos de aceleração, usando para isso o método das diferenças finitas progressivas, conforme mostra a Equação (63):

$$\dot{\mathbf{a}}(t) = \frac{\mathbf{a}(t + \delta t) - \mathbf{a}(t - \delta t)}{\delta t}. \quad (63)$$

Substituindo a Equação (63) na Equação (62) e fazendo alguns rearranjos, obtém-se assim o algoritmo de Velocity Verlet para cálculo de velocidade, como indica a Equação (64)

$$\begin{aligned} \mathbf{v}(t + \delta t) &= \mathbf{v}(t) + \mathbf{a}(t)\delta t + \frac{1}{2} \frac{\mathbf{a}(t + \delta t) - \mathbf{a}(t - \delta t)}{\delta t} \delta t^2; \\ \mathbf{v}(t + \delta t) &= \mathbf{v}(t) + \mathbf{a}(t)\delta t + \frac{1}{2} (\mathbf{a}(t + \delta t) - \mathbf{a}(t - \delta t)) \delta t; \\ \mathbf{v}(t + \delta t) &= \mathbf{v}(t) + \frac{1}{2} \{[\mathbf{a}(t + \delta t) + \mathbf{a}(t)]\delta t\}. \end{aligned}$$

Substituindo:  $\mathbf{a} = \frac{\mathbf{F}}{m}$ , tem que:

$$\mathbf{v}(t + \delta t) = \mathbf{v}(t) + \mathbf{a}(t)\delta t + \frac{1}{2m} \{[\mathbf{F}(t + \delta t) - \mathbf{F}(t)]\delta t\}. \quad (64)$$

Aqui ressalta que a velocidade e posição são calculadas ao mesmo tempo, a velocidade pode ser obtida diretamente da força e o erro está na segunda potência.

## 2.6 Metadinâmica

Não há dúvida de que a dinâmica molecular é uma poderosa ferramenta para o entendimento em nível molecular. No entanto, muitas vezes, importantes configurações estão separadas por altas barreiras de energia livre, por exemplo, as reações químicas com barreiras energéticas maiores do que  $k_B T$  e enovelamento de proteínas. Mas para obter uma boa amostragem do espaço de fase demandaria um longo período de simulação. Dentro deste contexto, Laio e Parrinello (LAIO; PARRINELLO, 2002) propuseram uma técnica para acelerar a amostragem de eventos raros nas simulações de dinâmicas moleculares e reconstrução da superfície de energia livre em função de alguns poucos graus de liberdades selecionados (frequentemente, referidos como variáveis coletivas - CVs). Desta forma, o sistema é forçado a escapar de mínimos locais da superfície de energia livre (LAIO; GERVASIO, 2008).

As variáveis coletivas podem ser parâmetros geométricos (distância, ângulos e diedros), bem comuns em estudos de reações químicas. Podem ser ainda número de coordenação, energia potencial, dentre outras (LAIO; GERVASIO, 2008).

Na metadinâmica aplicada a DMCP tem-se a lagrangeana de Car-Parrinello dada pela Equação (47) (BARDUCCI; BONOMI; PARRINELLO, 2011) e termos adicionais relacionados à variável coletiva, como mostra a Equação (65).

$$\mathcal{L}^{MD} = \mathcal{L} + \sum_i \frac{1}{2} \mu_i \dot{s}_i^2 - \sum_i \frac{1}{2} k_1 [s_i(\mathbf{R}_I) - s_i]^2 + V(s, t). \quad (65)$$

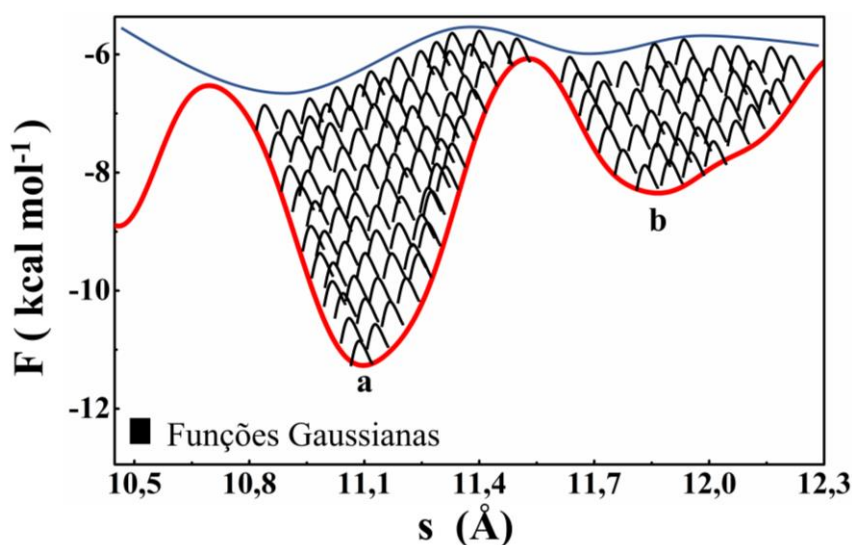
$\mathcal{L}$  é a lagrangeana de Car-Parrinello dada na Equação (47). O termo  $s_i(\mathbf{R}_I)$  é a variável coletiva, que define o estado das espécies (reagente e produto). Os termos:  $\mu_i$  e  $s_i$  representam a massa fictícia e a coordenada das partículas fictícias que são acopladas à variável coletiva. Assim, o segundo termo da Equação (65) representa a energia cinética fictícia. O terceiro termo refere-se à soma dos potenciais harmônicos acoplados à variável coletiva. O último termo:  $V(\mathbf{S}, t)$  representa um potencial externo dependente do tempo, dado pela Equação (66) (BARDUCCI; BONOMI; PARRINELLO, 2011):

$$V_G(s, t) = \int_0^t dt' w \exp\left(-\sum_i \frac{(s_i(R) - s_i(R(t')))^2}{2\delta_i^2}\right), \quad (66)$$

$w$  representa uma taxa de energia e  $\delta$  a largura da gaussiana. Este potencial externo é construído por uma somatória de gaussianas, colocadas ao longo da trajetória que tem por finalidade fazer o sistema escapar de uma região de mínima energia. Assim, aumentam o número de amostragem e constroem a energia potencial (BARDUCCI; BONOMI; PARRINELLO, 2011).

Para uma melhor compreensão do detalhamento da metadinâmica, analisemos a Figura 7, em que os pontos a e b são regiões de mínimo local. Um sistema localizado em a, por exemplo, está fadado a permanecer confinado. Para observar a reação será necessário um longo período de simulação, via dinâmica convencional. Então, a deposição das funções gaussianas elevará o potencial de polarização do sistema, veja que a outra trajetória (linha azul) foi traçada, de forma que o tempo reacional será reduzido, quando comparado com outras dinâmicas moleculares *ab initio* (SHANCHES NETO et al., 2018).

Figura 7 - Propagação reacional em função da variável coletiva.



Fonte: (SHANCHES NETO et al., 2018) - Adaptado.

## 2.7 Adiabaticidade do Sistema

Na DMCP é de fundamental importância manter a adiabaticidade do sistema, ou seja, manter a função de onda no estado fundamental. Isto é possível garantindo uma separação energética entre os subsistemas iônico e eletrônico. Caso haja troca entre as energias iônicas e eletrônicas, os orbitais aquecerão e sairão do estado fundamental,

comprometendo os resultados. Dois parâmetros que visam garantir esta adiabaticidade são: a massa fictícia ( $\mu$ ) e o tamanho dos passos de integração. Então, estes parâmetros devem ser escolhidos de tal forma que consiga uma boa separação entre as energias eletrônicas e iônicas, mas com custo computacional razoável (MARX, D. ;HUTTER, 2009).

Para que haja uma boa separação adiabática deve existir uma diferença significativa entre os espectros vibracionais eletrônicos e nucleares. A frequência mínima de vibração eletrônica pode ser dada pela Equação (67):

$$\omega_e^{\min} \propto \left( \frac{E_{\text{LUMO}} - E_{\text{HOMO}}}{\mu} \right)^{\frac{1}{2}}. \quad (67)$$

Veja que a frequência mínima é diretamente proporcional à diferença entre as energias do mais baixo orbital desocupado, do inglês *Lowest Unoccupied Molecular Orbital* (LUMO) e o mais alto orbital ocupado, do inglês: *Hight occupied Molecular Orbital* (HOMO) e inversamente proporcional à massa fictícia. Enquanto a frequência máxima iônica pode ser escrita como mostra a Equação (68):

$$\omega_e^{\max} \propto \left( \frac{E_{\text{Cut}}}{\mu} \right)^{\frac{1}{2}}. \quad (68)$$

Observe que a frequência máxima é inversamente proporcional à massa fictícia e diretamente proporcional à energia cinética de corte ( $E_{\text{cut}}$ ) para a expansão das funções de onda em termos de conjunto de bases de ondas planas, em que, quanto maior o número de ondas planas, maior a energia de corte.

O tamanho do passo de integração se relaciona com a massa fictícia conforme mostra a Equação (69):

$$\Delta t^{\max} = \frac{1}{\omega_e^{\max}} \propto \left( \frac{\mu}{E_{\text{Cut}}} \right)^{\frac{1}{2}}. \quad (69)$$

Pela Equação (69), percebemos que o tamanho do passo é inversamente proporcional à frequência máxima eletrônica. Portanto, para garantir uma boa adiabaticidade do sistema, deve-se ajustar a massa fictícia de tal forma que consiga uma diferença razoável entre a frequência mínima e máxima, garantindo um tamanho de passo que seja grande o suficiente para que a demanda computacional não seja intratável.

## 2.8 Controle de Temperatura

Uma função de onda só tem sentido físico se ela se mantiver na superfície de Born -Oppenheimer. Para isso, a temperatura relacionada à função de onda eletrônica deve ser bem menor que a temperatura do subsistema iônico, não podendo haver equilíbrio térmico entre os subsistemas.

Uma boa aproximação que controla individualmente a temperatura de dois subsistemas foi o termostato proposto por Nosé e posteriormente reformulado por Hoover (MARTYNA; KLEIN; TUCKERMAN, 1992). Nesta proposta, foi introduzida uma variável para gerar um *ensemble* canônico (NTV) a uma dada temperatura fixa. Posteriormente, foi generalizada essa ideia, introduzindo diversas variáveis que podem manter diferentes porções do sistema em divergentes temperaturas. Em 1992, foi proposto o acoplamento de dois termostatos de Nosé-Hoover na DMCP, sendo um para o subsistema iônico e outro para o subsistema eletrônico. A ideia era que os termostatos evitassem o fluxo de energia, e assim os elétrons permanecessem com temperatura menores que do subsistema iônico, mantendo na superfície de Born–Oppenheimer (MARX, D. ;HUTTER, 2009). Contudo, as simulações de DMCP ocorrem longe do equilíbrio térmico dos dois subsistemas, tornando insuficiente o controle de temperatura pelo termostato simples. Então, em 1994 Turkerman e Parrinello propuseram um método de cadeia de termostato de Nose-Hoover, evitando flutuações descontroladas (TUCKERMAN; PARRINELLO, 1994).

## 2.9 Funções de Bases

Os orbitais eletrônicos são expandidos em termos de função de base. Nos cálculos estáticos, em geral são usadas funções de bases do tipo Slater ou gaussianas. Sabe-se que as funções de base do tipo Slater são melhores para descrever o sistema, contudo de difícil integração, demandando muito tempo computacional. As gaussianas são de mais fácil integração, porém não são tão eficientes quanto às de Slater. Assim, para descrever bem um sistema é necessário uma combinação linear de gaussianas. Outra função de base empregada em cálculos computacionais são as funções de ondas planas, que inclusive foi o primeiro conjunto de base usada na DMCP proposta por Car-Parrinello (CAR; PARRINELLO, 1985). Dentre as várias vantagens do emprego das funções de base de ondas planas, podemos citar o

fato delas atenderem aos requisitos das equações de Kohn-Sham. Isto é, por possuírem formulação matemática relativamente simples, Equação (70), serem ortogonais, admitirem a transformação de um espaço real e recíproco pelo uso da transformada de Fourier e permitir a periodicidade do sistema fazendo o uso do teorema de Bloch.

$$\varphi_{ik} = \frac{1}{\sqrt{\Omega}} \sum_G C_{i,k+G} e^{i(G+k) \cdot r}. \quad (70)$$

Os termos:  $\frac{1}{\sqrt{\Omega}}$  é a constante de normalização,  $\Omega$  é o volume da cela periódica,  $G$  representa o vetor de rede recíproca e  $C_{i,k+G}$  é o coeficiente de expansão de Fourier.

A desvantagem de usar este tipo de função de base é a necessidade de uma grande quantidade de ondas planas para expandir os orbitais. Então, na expansão dos orbitais é necessário truncar as funções de base em certa energia de corte, para tornar o conjunto finito. Já, as ondas planas são usadas apenas para os elétrons de valência, assim, os elétrons da camada interna são substituídos por pseudopotenciais (TROULLIER; MARTINS, 1991; VANDERBILT, 1990).

## 2.10 Pseudopotencial

Os elétrons podem ser divididos em duas categorias: elétrons da camada interna, que estão mais fortemente ligados ao núcleo, formando o caroço iônico, e os elétrons da camada de valência, que estão mais fracamente ligados ao núcleo. Uma vez que os elétrons internos não participam efetivamente das ligações químicas, pode-se substituir o potencial formado pelo núcleo e elétrons internos por um pseudopotencial. Consequentemente, os elétrons da camada de valência serão descritos por pseudofunções de onda. Estas pseudofunções são mais suaves e sem nó. Portanto, são necessárias menos ondas planas no cálculo, diminuindo assim o tempo computacional. Na formulação do pseudopotencial é necessário encontrar uma pseudofunção que coincida com a função verdadeira a certa distância do núcleo, denominada raio de corte (TROULLIER; MARTINS, 1991; VANDERBILT, 1990).

Existem pseudopotenciais de norma conservada e de norma não conservada. Nos pseudopotenciais de norma conservada (TROULLIER; MARTINS, 1991), a pseudo função tem que coincidir com a função de norma conservada além do raio de corte. Isto é, a energia e

a densidade eletrônica coincidem com a função de todos os elétrons. Já nos pseudopotenciais de norma não conservada, como o ultrasoft de Vanderbilt (VANDERBILT, 1990), esta situação é mais relaxada, as funções de ondas são mais suaves, portanto, menos ondas planas são necessárias, o que melhora o tempo computacional. Em 1985, o primeiro pseudopotencial empregado em simulações de DMCP (CAR; PARRINELLO, 1985) foi o de norma conservada de Martin Truller. Oito anos depois, os pseudopotenciais ultrasoft de Vanderbilt começaram a ser aplicados em DMCP (LAASONEN et al., 1993).

## 2.11 Propriedades Estruturais e Eletrônicas

Através das simulações da DM é possível obter informações importantes sobre o sistema em investigação, dentre elas podemos citar a formação de interações inter e intramoleculares, como por exemplo, a ligação de hidrogênio, que pode ser investigada através da FDRP, TMR, das propriedades geométricas (distância Interatômica e ângulos internos) e propriedades energéticas (Energia de Helmholtz). Para investigar a intensidade, natureza e os orbitais envolvidos na estabilização das interações, duas análises são recomendadas: QTAIM e NBO.

### 2.11.1 A FDRP

A FDRP pode ser definida como a probabilidade de encontrar uma partícula  $k$  a uma distância  $r$  de uma partícula  $l$ , representada por:  $g_{kl}$ . A FDRP tem sido empregada para interpretações estruturais do sistema em estudo, como por exemplo, o número de camadas de hidratação. A Equação (71) representa a FDRP entre os pares de átomos  $k$  e  $l$  (SERRANO; SANTOS; GRECA, 2004):

$$g_{kl} = \frac{N_{kl}(r, r + \Delta r)}{4\pi r^2 \Delta r \rho_l} \quad (71)$$

Na Equação (71), o termo  $N_{kl}(r, r + \Delta r)$  representa o número médio da espécie  $l$  encontrada na casca de uma esfera cujo raio interno é  $r$  e o raio externo dado por  $r + \Delta r$ , sendo  $r$  a distância entre as espécies  $k$  e  $l$ . O termo:  $4\pi r^2 \Delta r$  é o elemento de volume da casca da esfera

e  $\rho_l$  a densidade numérica média da espécie  $l$  na simulação, veja a Figura 8 (SERRANO; SANTOS; GRECA, 2004).

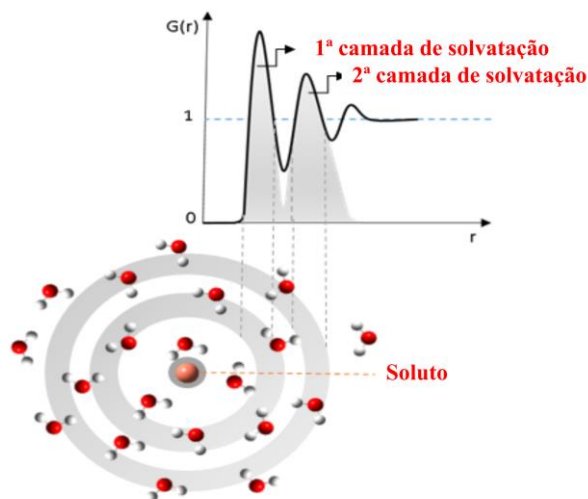
Portanto, a FDRP é a relação entre a probabilidade de encontrar um átomo da espécie  $l$  a uma distância  $r$  de  $k$  e a probabilidade de encontrar este par de átomos (sendo um da espécie  $l$  e outro da espécie  $k$ ) de um sistema aleatoriamente distribuído, com densidade semelhante (SERRANO; SANTOS; GRECA, 2004).

A integração da FDRP nos fornece a estimativa do número de moléculas do solvente na camada de solvatação, dado pela Equação (72):

$$N_A = 4\pi\rho_l \int_0^{r_{min}} g_{kl}(r)r^2 dr. \quad (72)$$

Sendo,  $N_A$  representa o número de átomos de água presentes em um raio mínimo e  $N_l$  o número médio de átomos que estão em um volume  $V$ .

**Figura 8** - Configuração esquemática da distribuição das partículas de uma distância  $r$  e  $r + \Delta r$  em uma função de distribuição de pares.



Fonte:(SHANCHES NETO et al., 2018) – Adaptado.

### 2.11.2 O TMR

O TMR corresponde ao tempo médio em que o solvente associa ao soluto através da coordenação (IMPEY; MADDEN; MCDONALD, 1983). O TMR pode ser escrito pela Equação (73).

$$\tau = \frac{n_s \cdot t_{sim}}{N_{troca}} \quad (73)$$

Sendo que o termo  $\tau$  corresponde ao TMR,  $n_s$  o número médio de moléculas do solvente em uma camada,  $t_{sim}$  o tempo total de simulação e  $N_{troca}$  o número de trocas, isto é, a quantidade de vezes que a molécula do solvente entra e sai da camada em questão.

Para que a interpretação do TMR seja completa, deve-se mencionar a função  $P_K(t, t_n, t^*)$ , esta função refere-se à propriedade do solvente  $l$ , podendo variar de 0 a 1. O valor da função é 1, se  $l$  estiver dentro da primeira esfera de solvatação do soluto  $k$  nos intervalos de tempo:  $t$  e  $t + t_n$ , isto é, sem deixar a esfera de hidratação por um período de tempo de  $t^*$ , caso contrário, assume valor 0. O número de moléculas que se encontra no interior de uma camada de solvatação por um período de tempo ( $t$ ) é dado pela Equação (74) (IMPEY; MADDEN; MCDONALD, 1983):

$$n(t) = \frac{1}{N_t} \sum_{k=1}^N \sum_l P_K(t, t_n, t^*) \quad (74)$$

Quando o solvente se mantém na esfera de hidratação por um tempo maior que  $t^*$ , considera-se que houve uma “troca”. Neste trabalho, consideramos  $t^*$  igual a 0. De fato  $t^* = \Delta t$ , em que  $\Delta t$  é a diferença de tempo entre duas configurações. Assim, toda trajetória é varrida em busca de solventes que estão entrando e saindo da camada de hidratação (IMPEY; MADDEN; MCDONALD, 1983).

### 2.11.3 Ligação de Hidrogênio

A ligação de hidrogênio pode ser definida classicamente como uma atração intermolecular entre um grupo X - H e um átomo ou grupo de átomos Y na mesma ou em diferente molécula, onde há evidência de formação de ligação (BUCKINGHAM; DEL

BENE; MCDOWELL, 2008). Onde, X e Y em geral são elementos com alta eletronegatividade (DUVOISIN et al., 2011). A ligação de hidrogênio é a interação de maior interesse investigativo (DURLAK; LATAJKA, 2014; STEINER, 2002), isto porque desempenha um papel significativo em processos físicos, químicos e bioquímicos, como por exemplo, na transferência de próton e em catálises enzimáticas (GRABOWSKI, 2011).

Há uma acentuada flexibilidade nos parâmetros geométricos deste tipo de interação, como o comprimento e os ângulos de ligação, isto ocorre devido à natureza eletrostática da interação. Contudo, existe um limite de distância entre H---Y de até 3,2 Å para caracterizar como ligação de hidrogênio. Quanto ao ângulo entre X – H --- Y deve ser preferencialmente linear (180°), contudo, ângulos maiores que 90° preferivelmente maior que 110° podem caracterizar uma ligação de hidrogênio (MINCH, 1999; STEINER, 2002).

As ligações de hidrogênio podem ser classificadas em: fracas, moderadas ou fortes, dependendo da distância da interação H---Y e do ângulo X – H --- Y. São consideradas fracas ligações de hidrogênio, interações com distância maior que 2,2 Å e ângulo entre 90° a 130°, moderadas aquelas com distância no intervalo de 1,5 Å a 2,2 Å, cujos ângulos sejam superiores a 130° e forte as interações com distância entre 1,2 Å e 1,5 Å, com ângulos no intervalo de 170° a 180° (MINCH, 1999).

#### 2.11.4 Energia Livre de Helmholtz

A energia livre de Helmholtz é uma função de estado, mantendo fixo volume, quantidade de matéria e temperatura do sistema. Pode ser calculada através da Equação (75).

$$F = -k_B T \ln[P(\Delta r)]. \quad (75)$$

Sendo,  $k_B$  a constante de Boltzman, T temperatura simulada e  $P(\Delta r)$  a função de distribuição da reação coordenada.

#### 2.11.5 Função de Correlação da Velocidade

Quando se trata de uma simulação, é necessário selecionar frames não correlacionados para realizar algumas análises (NETO et al., 2018). Uma propriedade que pode nos fornecer dados relevantes em um processo de dinâmica molecular é a função de correlação da velocidade, expressa na Equação (76).

$$C_v(t = n\delta t) = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N [\mathbf{v}_i(t = t_0) \cdot \mathbf{v}_i(t = t_0 + n\delta t)]. \quad (76)$$

Observe que o produto escalar ocorre entre uma velocidade em um ponto de origem e a velocidade no tempo:  $t_0 + n\delta t$ , que corresponde aos  $n$  passos da trajetória da dinâmica. Espera-se que o produto escalar de  $\mathbf{v}_i(t = t_0)$  com  $\mathbf{v}_i(t = t_0 + n\delta t)$  diminua à medida que a velocidade muda, isto é, as velocidades percam a correlação com o tempo. É importante selecionar frames que estejam com velocidades descorrelacionadas, para evitar que a amostra seja tendenciosa.

### 2.11.6 Análise de QTAIM

A análise de QTAIM descreve quanticamente o comportamento dos átomos em uma ligação química (OLIVEIRA; ARAÚJO; RAMOS, 2010), que é importante para entender a natureza da interação entre dois átomos (GRABOWSKI, 2011). É uma aproximação eficiente para investigar a consistência das interações intra e intermoleculares através da análise de propriedades topológicas dos pontos críticos entre os átomos. Assim, no ponto crítico, o gradiente da densidade é nulo e a densidade eletrônica é mínima. Ou seja, a natureza da interação entre dois átomos pode dividir em duas classes: a interação compartilhada (ligação covalente), ou a interação de camada fechada (ligação iônica, interação de Van der Waals ou ligação de hidrogênio). Na interação de natureza covalente a densidade do elétron em geral é maior que 0,2 ua e Laplaciano negativo. Nas interações camada fechada, como as de natureza predominantemente eletrostática, a densidade é menor que 0,1 ua e o Laplaciano é positivo (BADER, 1985). Combinando-se o sinal e a magnitude dos parâmetros:  $\nabla^2\rho(\mathbf{r})$ ,  $V(\mathbf{r})$  e  $E(\mathbf{r})$ , que representam, respectivamente: o Laplaciano, a energia potencial e a densidade de energia eletrônica, pode-se obter a intensidade das interações. De acordo com Rozas (2000) (ROZAS; ALKORTA; ELGUERO, 2000) a força da ligação de hidrogênio pode ser classificada como: i) forte, quando:  $\nabla^2\rho(\mathbf{r}) < 0$ ,  $E(\mathbf{r}) < 0$  e  $|V(\mathbf{r})| > E(\mathbf{r})$ ; ii) fraca, quando  $\nabla^2\rho(\mathbf{r}) > 0$  e  $E(\mathbf{r}) > 0$ ; e iii) moderada, quando  $\nabla^2\rho(\mathbf{r}) > 0$  e  $E(\mathbf{r}) < 0$ .

### 2.11.7 Análise do NBO

A análise de NBO é fundamental para auxiliar na explicação de interações representadas por um pequeno afastamento dos orbitais de ligação natural localizados. No formalismo do NBO, a deslocalização eletrônica é chamada de hiperconjugação. A energia de hiperconjugação pode ser estimada usando a fórmula de perturbação de segunda ordem dada pela Equação (77) (ALABUGIN; GILMORE; PETERSON, 2011):

$$E(2) = -n_i \frac{\langle \phi_i | F | \phi_{j^*} \rangle^2}{\varepsilon_{j^*} - \varepsilon_i} = -n_i \frac{F_{ij}^2}{\Delta E} \quad (77)$$

Em que  $\langle \phi_i | F | \phi_{j^*} \rangle^2$  ou  $F_{ij}^2$  são os elementos da matriz de Fock entre os orbitais:  $\phi_i$  e  $\phi_{j^*}$ . Já  $\varepsilon_{j^*}$  é a energia do orbital antiligante  $\phi_{j^*}$  e  $\varepsilon_i$  é a energia do orbital ligante  $\phi_i$ . O termo  $n_i$  representa a ocupação da população do orbital doador  $\phi_i$ .

Quanto maior o valor de  $E(2)$ , mais intensa é a deslocalização da densidade de elétrons, ou seja, mais intensa será a hiperconjugação entre os doadores de elétrons e os receptores de elétrons (ALABUGIN; GILMORE; PETERSON, 2011).

## CAPÍTULO 3 – PROCEDIMENTOS COMPUTACIONAIS

Neste trabalho, foram realizadas simulações a fim de analisar a influência das moléculas de água e identificar possíveis coordenações dos íons cálcio e cobalto com a GlcN. Nas análises foram empregadas a DMCP, que tem se tornado cada vez mais importante como ferramenta para estudar e caracterizar sistemas moleculares (HASSANALI et al., 2014; TUCKERMAN; ROSENVINGE; KLEIN, 2011). A seguir serão descritos os detalhes dos cálculos da solvatação e da complexação da GlcN.

### 3.1 Cálculo de Estrutura Eletrônica

Com o objetivo de validar o método de DMCP e na ausência de dados experimentais, a GlcN foi otimizada através de dois métodos: *Couple Cluster Single Double* com função de base 6-311++G (d, p) e o método da DFT (KOHN; SHAM, 1965), com termo de correlação e troca PBE (PERDEW; BURKE; ERNZERHOF, 1996) e função de base 6-311++G (d, p), utilizando o programa Gaussian 09 (FRISCH MICHAEL J. TRUCKS, G. W. SCHLEGEL, 2009). Após a molécula otimizada, foram calculados parâmetros geométricos (distância e ângulo de ligação) para efeito de comparação com os obtidos na DMCP.

### 3.2 Dinâmica e Metadinâmica Molecular da Solvatação da GlcN

Foram feitas investigações da GlcN isolada e em meio aquoso, com o objetivo de quantificar o efeito das moléculas de água sobre os parâmetros geométricos da GlcN. As simulações de DMCP foram realizadas utilizando-se o pacote do programa CPMD versão 4.1 (CPMD; DYNAMICS, 2015). Foram construídas 2 caixas cúbicas com condições periódicas de contorno: uma de 15 Å com uma única molécula de GlcN e outra de 16 Å contendo uma molécula de GlcN, mais 80 moléculas de água. As otimizações da função de onda para ambos os sistemas foram realizadas utilizando-se a inversão direta no algoritmo iterativo do subespaço (ODIIS) (HUTTER; LÜTHI; PARRINELLO, 1994). O núcleo iônico foi descrito usando pseudopotenciais de Vanderbilt (VANDERBILT, 1990) de norma não conservada. As funções de onda dos elétrons de valência foram expandidas usando funções de ondas planas, ajustadas com energia de corte de 25 Ry. Para a expansão da densidade de carga foi usada

energia de 100 Ry. A aproximação generalizada do Gradiente PBE (PERDEW; BURKE; ERNZERHOF, 1996) foi usada para a energia de correlação e troca do subsistema eletrônico. Apenas os pontos gamma foram utilizados para a amostragem da zona de Brillouin. Os sistemas foram simulados no *ensemble* canônico NVT. Já, o controle da temperatura foi feito pelo termostato de Nose-Hoover (MARTYNA; KLEIN; TUCKERMAN, 1992), que controlou a temperatura em 300 K. As equações de movimento foram integradas numericamente usando o algoritmo *Velocity-Verlet* (VERLET, 1967) com um intervalo de tempo de 0,121 fs. A massa fictícia eletrônica ficou definida em 400 ua, em ambos os sistemas. Ao longo da trajetória simulada coletaram-se as coordenadas atômicas e velocidades a cada 5 passos. A visualização das trajetórias foi feita com o *software Visual Molecular Dynamics* (VMD) (HUMPHREY; DALKE; SCHULTEN, 1996).

Com o objetivo de investigar a transferência de hidrogênio da molécula de água para o nitrogênio da GlcN, realizou-se uma simulação empregando a ferramenta Metadinâmica. Seguiu-se o mesmo protocolo descrito na DMCP de solvatação, diferenciando apenas para a coordenada coletiva selecionada, que nesta simulação, corresponde à diferença da distância entre os átomos de oxigênio e hidrogênio da molécula de água e a distância do átomo de hidrogênio da água e o nitrogênio da GlcN. A massa fictícia da variável coletiva foi de 60 u.m.a e temperatura 300K, enquanto, a taxa de energia considerada neste trabalho foi de 0,1 kcal mol<sup>-1</sup>. Já, a largura da gaussiana foi considerada 0,0005. Novas gaussianas foram adicionadas após 50 etapas da trajetória, isto no caso em que o deslocamento da variável coletiva excedia 0,001. Caso contrário, a adição era forçada após 100 etapas da trajetória. Estes parâmetros foram ajustados a partir de cálculos preliminares.

### 3.2.1 Propriedades Calculadas

Com o resultado da simulação da GlcN solvatada em meio aquoso, foram calculados a FDRP (SERRANO; SANTOS; GRECA, 2004) e o TMR (IMPEY; MADDEN; MCDONALD, 1983) das moléculas de água, na primeira camada de solvatação de cada sítio da GlcN. Para análises das interações identificadas foram realizados os cálculos de parâmetros geométricos e a energia livre de Helmholtz (STEINER, 2002). Calculou-se estas propriedades com o auxílio do programa desenvolvido pelo grupo de Química Teórica e Estrutural de Anápolis - gqtea.

Com a finalidade de caracterizar e classificar as ligações de hidrogênio encontradas, realizaram-se análises de QTAIM (BOYD; MATTA, 2007; GRABOWSKI, 2011) utilizando o software Multiwfn 3.3.750 (LU; CHEN, 2012), com a função de onda obtida no nível de teoria M062X/6-311++G\*\* (ZHAO; TRUHLAR, 2008). Foram selecionados duas configurações não correlacionados, com basa na função de autocorrelação da velocidade, para análise de QTAIM após o sistema entrar em equilíbrio (aproximadamente 6 ps, instante a partir do qual, observou-se a formação das interações). Sendo uma configuração correspondente à menor distância entre os átomos da interação, e a outra configuração correspondente à maior distância entre os átomos da interação. Este procedimento foi feito para a ligação de hidrogênio mais estável de cada sítio.

A energia de hiperconjugação derivada da análise de NBO foi calculada a fim de explicar as estabilizações das ligações de hidrogênio. A análise do NBO foi realizada na ligação de hidrogênio que se mostrou mais estável em cada sítio. Para cada interação, 3 configurações foram consideradas: I) uma configuração correspondente à maior distância entre os átomos da interação; II) uma configuração correspondente à distância média entre os átomos da interação e III) uma configuração correspondente à maior distância entre os átomos da interação.

### **3.3 Dinâmica Molecular da Complexação da GlcN com Metais em Fase Gasosa e em Ambiente de Solvatação**

Com o auxílio do programa *Hyperchem* (HYPERCUBE INC, 2001), foram constituídas 4 caixas cúbicas de 16Å contendo uma molécula de GlcN e um átomo de cálcio cada, e 4 caixas cúbicas de 16Å contendo uma molécula de GlcN e um átomo de cobalto cada. O que diferenciou um sistema do outro foi a configuração inicial. Seguiu-se o protocolo semelhante ao descrito na DMCP de solvatação. Contudo, para complexação foi usado a pseudopotencial de norma conservada de Martin Truller, energia de corte de 75 Ry e energia de corte da densidade de carga 300 Ry. O tempo de integração foi de 0,0968 fs para os 4 sistemas da complexação de GlcN e Ca<sup>2+</sup>, e para uma das trajetórias da complexação de GlcN e Co<sup>2+</sup>, cujos intervalos maiores geravam inconsistência de cálculo. Para as três outras trajetórias de complexação de GlcN e Co<sup>2+</sup>, o intervalo de tempo de simulação foi de 0,121fs.

Para explicar o efeito da solvatação na complexação do cálcio e GlcN, realizaram-se duas simulações das quais foram selecionadas as configurações iniciais GlcN\_Ca<sup>2+</sup>\_T-2 e

GlcN\_Ca<sup>2+</sup>\_T-3 e em cada uma delas adicionou-se 12 moléculas de água. Seguindo o mesmo protocolo da dinâmica de cálcio e GlcN na fase gasosa descrita anteriormente. Todas as trajetórias com tempo de integração de 0,0968 fs.

A fim de investigar a coordenação dos íons cobalto com a GlcN em meio aquoso, foram realizadas ainda, 4 simulações do sistema GlcN, Co<sup>2+</sup> e 32 moléculas de água, com tempo de simulação 0,121 fs. Seguindo o mesmo protocolo da simulação dos sistemas GlcN e Co<sup>2+</sup> na fase gasosa.

### 3.3.1 Propriedades Calculadas

Para caracterizar as coordenações entre o metal e os sítios da GlcN foram analisadas as seguintes propriedades: distância média de ligação entre os átomos da interação, que foi calculado do equilíbrio do sistema até o final da simulação e a energia livre de Helmholtz usando o programa gqtea. Foram calculadas ainda propriedades topológicas através da análise da QTAIM, para ambos os complexos, com nível de cálculo M062X/6-311++G\*\*. Para análise de QTAIM, foram selecionadas duas configurações não correlacionadas, de cada interação, isto entre o tempo de equilíbrio e o tempo final da simulação. Sendo que, estas duas configurações são correspondentes a mais longa e a mais curta distância entre os átomos da interação.

Para o complexo entre GlcN e cálcio foram selecionados 100 frames não correlacionados para calcular a energia de complexação, usando DFT com nível de cálculo M062XD/6-311++G\*\*. Para aprimorar o resultado, foi empregada dispersão empírica de Petterson Frish. Os frames foram selecionados entre o tempo de equilíbrio e o tempo final da simulação. As energias de interação da complexação foram corrigidas para o erro de superposição do conjunto de base (BSSE) com base no método de correção de counterpoise (BOYS; BERNARDI, 1970; FAVER; ZHENG; MERZ, 2011).

Realizou-se ainda, a análise de NBO para as interações entre GlcN e cálcio a partir da configuração correspondente à menor energia de complexação. As reações químicas envolvidas nas complexações do cobalto com a GlcN dificultaram a execução destas análises, por isso não foram realizadas para sistemas contendo cobalto.

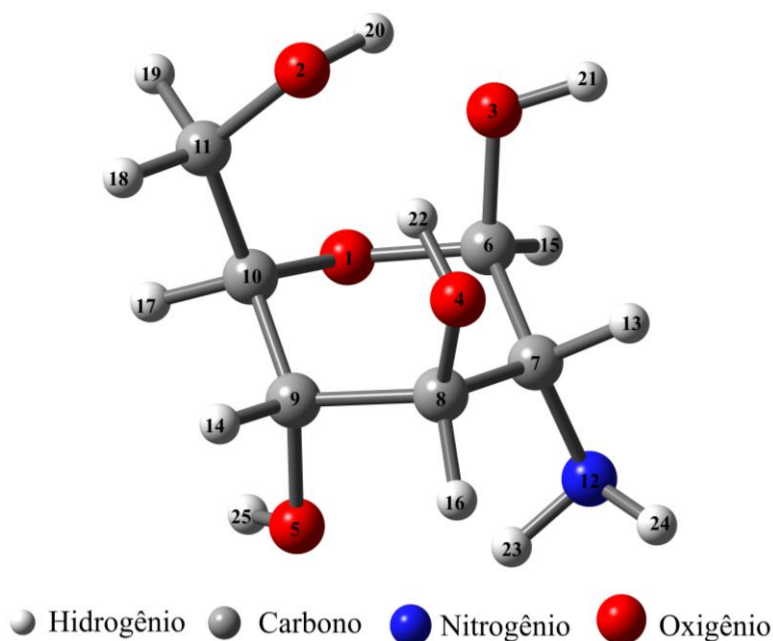
Todos os cálculos de estrutura eletrônica e dinâmica molecular foram realizados no Centro de Computação de Alta Performance da Universidade Estadual de Goiás.

## CAPÍTULO 4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

A fim de garantir a acuracidade da simulação realizada através da DMCP, deve-se ajustar parâmetros para manter o controle de temperatura e adiabaticidade do sistema. Em todas as simulações realizadas neste trabalho houve uma nítida separação entre as energias iônicas e eletrônicas, garantindo, portanto, a adiabaticidade dos sistemas durante todo tempo de simulação. A temperatura permaneceu em média 300K, valor escolhido para todos os sistemas.

A Figura 9 representa a estrutura química da GlcN com a numeração adotada na discussão dos resultados deste trabalho.

**Figura 9** – Representação da estrutura química da GlcN com a numeração adotada no texto.



### 4.1 Validação do Método

A Tabela 1 mostra os valores médios para os parâmetros geométricos da GlcN em fase gasosa, obtidos através da DMCP e dos níveis de energia: CCSD/6-311++G(d,p) e PBE/6-311++G(d, p). Mostra ainda o valor médio da diferença absoluta percentual entre os métodos, obtido conforme a Equação (78):

$$D \% = \frac{|DM-Y|}{DM}. \quad (78)$$

Sendo que D% representa a diferença percentual, o termo DM refere-se aos resultados usando DMCP e Y representa os dados que estão sendo comparados, isto é, resultados de CCSD, PBE e raios X. Os dados completos encontram-se na Tabela S1 em anexo. No melhor do nosso conhecimento, não há nenhum dado de raios X para o isômero  $\beta$ -D-GlcN (investigado neste trabalho, por ser o mais abundante), mas somente para a  $\alpha$ -D-GlcN. Logo, foi incluído na Tabela 1 os dados de raios X da  $\alpha$ -D-GlcN (HARRISON et al., 2007), apenas para finalidades de comparação. É importante ressaltar que nos dados de raios X da  $\alpha$ -D-GlcN, o grupo amino é protonado e o contra íon  $Cl^-$  está presente no cristal (HARRISON et al., 2007).

A maior discordância para os comprimentos de ligação ocorre entre o método de DMCP e o método CCSD, em que os comprimentos da ligação O-H mostram uma diferença absoluta percentual de 2,725%. A discordância mais considerável entre o método de DMCP e o PBE/6-311++G(d,p) ocorre para o comprimento de ligação C-N, com uma diferença de 1,751%. Este resultado mostra que há uma boa concordância entre a simulação de DMCP e o cálculo de estrutura eletrônica PBE/6-311++G(d,p). Também é observada uma concordância entre o método de DMCP e dados de raios X para comprimentos de ligação da  $\alpha$ -D-GlcN, sendo a maior diferença média absoluta de 1,551%, que ocorre na ligação C-C.

**Tabela 1** - Parâmetros geométricos médios da GlcN obtidos com os níveis de teoria DMCP, CCSD/6-311++G (d, p) e PBE/6-311++G(d, p). Os dados do raios X foram incluídos para a finalidade de comparação. O comprimento da ligação e os ângulos inter atômicos são dados em Angstroms (Å) e em graus (°), respectivamente.

Dif-1\* Média da diferença absoluta percentual de DMCP e CCSD.

Dif-2\* Média da diferença absoluta percentual de DMCP e PBE.

Dif-3\* Média da diferença absoluta percentual de DMCP e raios X.

Parâmetros Geométricos	DMCP	CCSD	Dif-1* %	PBE	Dif-2* %	Raios X	Dif-3* %
C-C	1,55	1,54	0,52	1,54	0,19	1,52	1,55
C-O	1,44	1,42	1,53	1,43	0,49	1,43	0,97
C-N	1,49	1,47	1,28	1,46	1,75	1,50	0,94
O-H	0,99	0,96	2,73	0,98	0,81	-	
N-H	1,03	1,02	1,17	1,02	0,49	-	
C-C-C	112,91	113,14	0,20	111,84	0,95	110,54	2,10
C-C-O	111,36	112,00	0,58	112,50	1,02	109,48	1,69
C-O-H	107,13	107,61	0,45	105,58	1,45	-	
C-N-H	110,73	109,26	1,33	110,78	0,04	-	

Os resultados da simulação de DMCP para os ângulos de ligação, quando comparados com os métodos CCSD e PBE/6-311++G(d,p), também apresentam boa concordância. As maiores diferenças absolutas percentuais dos valores de ângulos obtidos pelos métodos DMCP e CCSD foi de 1,328%, já a diferença absoluta percentual dos ângulos obtidos pelos métodos DMCP e PBE foi de 1,447% para C-O-H. Quando comparado com os dados de raios X da  $\alpha$ -D-GlcN, a maior diferença absoluta percentual foi de 2,099% para o ângulo entre C-C-C. Todos os resultados mostram que a simulação de DMCP usando ondas planas para expandir as funções de base dos elétrons de valência, pseudopotenciais de Vanderbilt para o *core*, bem como os demais parâmetros usados, proporcionam resultados aceitáveis para o estudo quântico computacional da  $\beta$ -D-GlcN.

## 4.2 Solvatação Aquosa da GlcN

### 4.2.1 Efeitos da Solvatação Aquosa sobre os Parâmetros Geométricos da GlcN

A Tabela 2 apresenta os parâmetros geométricos que mais variaram devido ao processo de solvatação aquosa da GlcN, mas os dados completos estão no material complementar (Tabela S1). Comparando a simulação de DMCP de uma molécula de GlcN isolada com a de uma molécula de GlcN solvatada por 80 moléculas de água, nota-se que os parâmetros geométricos mais afetados significativamente pela hidratação foram: O(3)-H(21), O(1)-C(6) e O(4)-H(22) com diferença percentual absoluta de 2,03%, 1,33% e 1,11% respectivamente. Os ângulos de ligação mais alterados foram C(11)-C(10)-O(1), H(13)-C(7)-N(12) e N(12)-C(7)-C(8), com diferenças percentuais absolutas de 6,72%, 3,94% e 3,53%, respectivamente. A simulação de DMCP mostra que o processo de hidratação afeta mais significativamente os parâmetros geométricos da GlcN relacionados ao heteroátomo, grupos hidroxilas e grupo amino. Mostrando fortes evidências de interações dos grupos hidroxil e amino da GlcN com moléculas de água.

**Tabela 2** - Parâmetros geométricos médios da GlcN isolada e solvatada obtidos da simulação de DMCP e as diferenças absolutas percentuais entre os dois sistemas. O comprimento da ligação e os ângulos internos são dados em Angstroms (Å) e em graus (°), respectivamente.

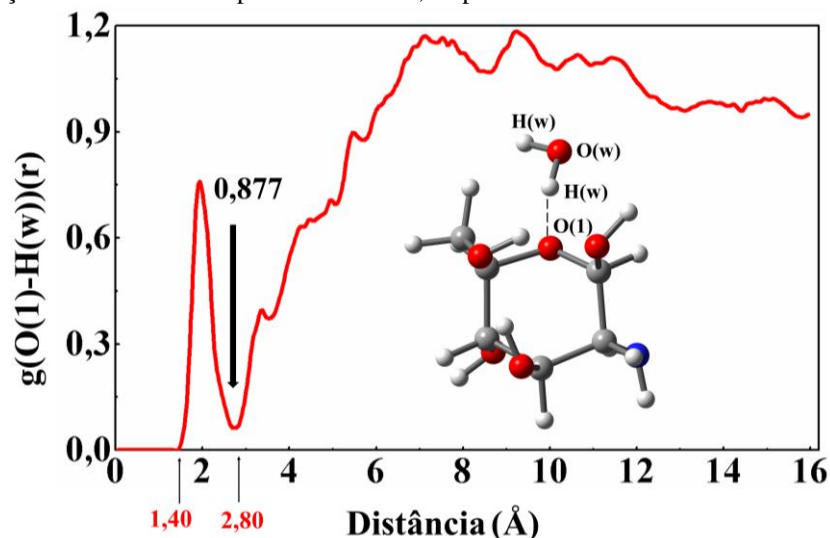
Ligação/ângulo	Fase Gasosa	Solvatada	$\Delta(\%)$	Parâmetros geométricos	Fase gasosa	Solvatada	$\Delta(\%)$
C(9)-C(10)	1,55± 0,04	1,54± 0,03	0,45	C(6)-C(7)-N(12)	10,31± 3,62	111,19± 3,07	1,72
C(7)-C(8)	1,55± 0,04	1,56± 0,04	0,45	H(23)-N(12)-H(24)	107,29± 4,97	105,32± 5,08	1,84
N(12)-H(23)	1,02± 0,03	1,03± 0,03	0,49	C(9)-C(10)-O(1)	113,30± 33,1	111,19± 3,07	1,86
N(12)-H(24)	1,03± 0,03	1,03± 0,03	0,49	C(7)-N(12)-H(23)	110,94± 4,72	108,86± 4,51	1,87
C(6)-O(3)	1,45± 0,04	1,43± 0,03	0,97	H(15)-C(6)-O(3)	106,80± 4,11	108,86± 3,93	1,93
O(4)-H(22)	0,99± 0,03	1,00± 0,03	1,11	C(6)-C(7)-C(8)	111,22± 3,24	114,32± 2,82	2,79
O(1)-C(6)	1,46± 0,03	1,44± 0,04	1,33	C(9)-O(5)-H(25)	105,65± 4,18	108,64± 4,59	2,83
O(3)-H(21)	0,99± 0,03	1,01± 0,03	2,03	N(12)-C(7)-C(8)	108,93± 3,40	112,78± 3,41	3,53
C(7)-C(9)-O(4)	110,80± 3,87	112,5± 3,53	1,56	H(13)-C(7)-N(12)	112,11± 4,25	107,69± 4,05	3,94
C(5)-C(9)-C(10)	110,16± 3,41	108,4± 3,66	1,56	C(11)-C(12)-O(1)	105,61± 4,39	112,70± 3,43	6,72

#### 4.2.2 Análise da FDRP

Com o intuito de avaliar as possíveis interações entre as moléculas de água e a estrutura da GlcN, as camadas de solvatação foram investigadas através da FDRP. Os sítios analisados quanto à formação de interações foram: O(1), O(2)-H(20), O(3)-H(21), O(4)-H(22), O(5)-H(25), H(23)-N(12)-H(24). Neste trabalho, será utilizado o índice  $w$  para referir-se aos átomos provenientes de moléculas de água.

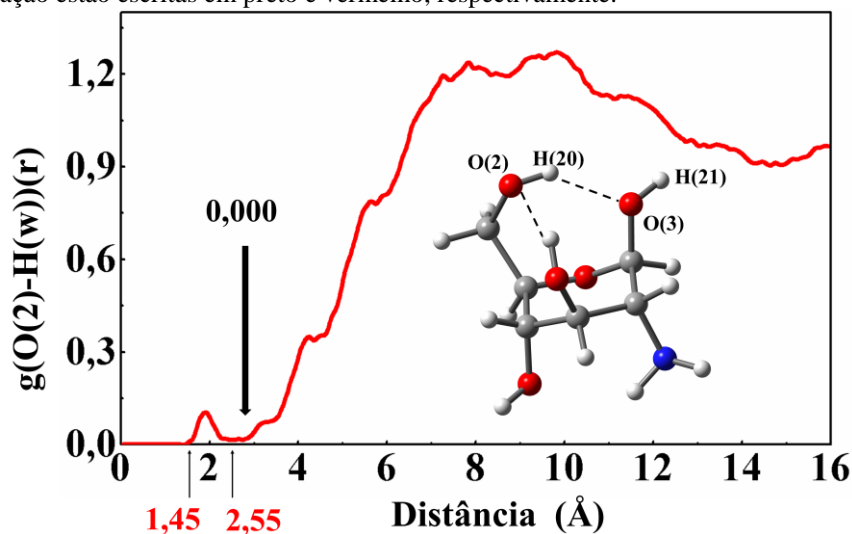
A FDRP entre O(1)-H( $w$ ) está representada na Figura 10. A primeira esfera de hidratação compreende o intervalo de 1,4 Å e 2,8 Å, com valor máximo de distribuição em 1,95 Å. A segunda esfera de hidratação encontra-se muito difusa, não sendo possível identificar um pico nitidamente. Na Figura 10, a seta indica a extremidade máxima da primeira camada de solvatação. O número acima da seta indica o valor médio de átomo de hidrogênio da primeira camada (0,877) obtido através da integral da FDRP.

**Figura 10** - FDRP do sítio O(1) – H(w) da GlcN. A integral da área e as extremidades da primeira esfera de hidratação estão escritas em preto e vermelho, respectivamente.



No sítio do O(2) o número de moléculas de água dentro da primeira esfera de hidratação e suas extremidades estão representadas na Figura 11. Nota-se um primeiro pico com intensidade muito baixa e não se observa nenhum outro pico nitidamente. Portanto, infere-se que não houve interação de O(2) com moléculas de água. O número de moléculas de água dentro da primeira esfera de hidratação e suas extremidades estão representadas na Figura 11.

**Figura 11** - FDRP do sítio O(2) – H(w) da GlcN. A integral da área e as extremidades da primeira esfera de hidratação estão escritas em preto e vermelho, respectivamente.



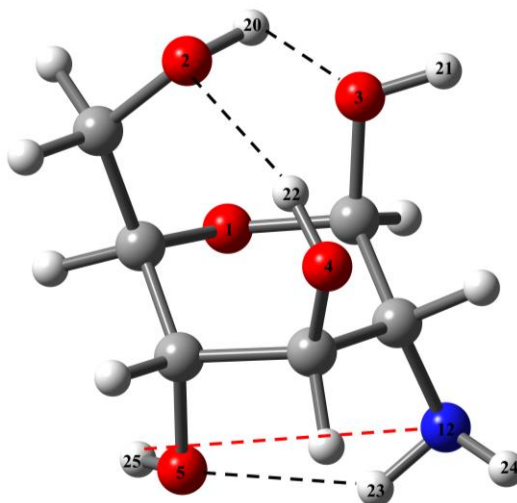
Como o O(2) não mostrou interação com a água, fez-se a análise do hidrogênio, H(20), da molécula de GlcN com o átomo de oxigênio da água, compreendendo que a

orientação da interação poderia ser via hidrogênio da hidroxila com o oxigênio da água, H(20)-O(w). Porém, também não apresentou pico nítido.

A princípio os resultados não foram ao encontro do esperado, um sítio hidroxila não estar envolvido em nenhuma interação com a água. Na tentativa de explicar o motivo de não formar ligação de hidrogênio neste sítio da molécula, as trajetórias da GlcN a vácuo e solvatada foram analisadas com ajuda do programa VMD. Na trajetória contendo a molécula isolada, pode-se perceber possíveis interações intramoleculares, nos seguintes locais: H(22)-O(2)-H(20); H(20)--O(3)-H(21) e H(25)--N(12)-H(23), como mostra a Figura 12. Conferindo em partes com os resultados encontrados por Fattahi e colaboradores (2008), que fizeram análise usando DFT (FATTAHI et al., 2008).

Ao analisar a trajetória da molécula de GlcN solvatada, percebe-se quase as mesmas interações intramoleculares do composto isolado, exceto que na GlcN solvatada a interação é entre H(23) e O(5) e na isolada é entre H(25) e N(12). Veja que tanto o O(2), quanto o H(20) estão envolvidos em possíveis interações intramoleculares, justificando a não percepção de interação deste sítio com moléculas de água.

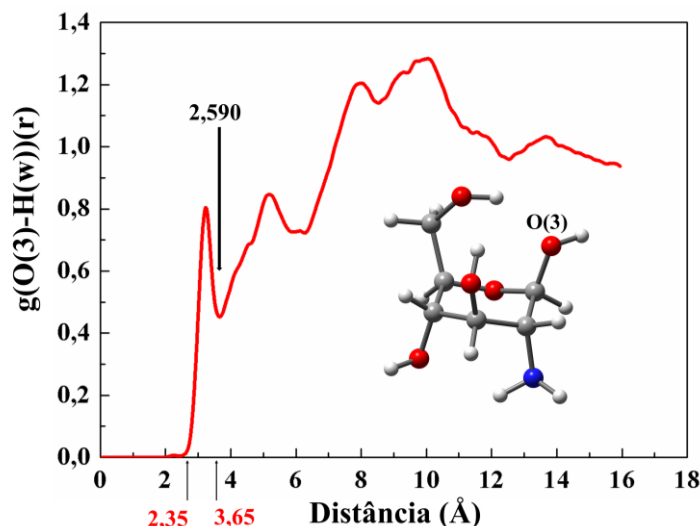
**Figura 12** - Interações intramoleculares da molécula de GlcN.



A primeira camada de hidratação centrada no átomo O(3) é mostrada na Figura 13 e tem um pico bem definido situado entre 2,35 Å e 3,65 Å. O máximo deste pico ocorre em 3,25 Å. Embora esteja nítido, o pico não está intenso e 3,65 Å é um valor maior do que o esperado para ligação de hidrogênio. A integral da FDRP mostra que há em média 1 molécula de água a aproximadamente 3,2 Å (valor máximo para caracterizar uma ligação de hidrogênio). Já no extremo máximo da *shell*, existem 2,590 átomos de hidrogênio. Estes

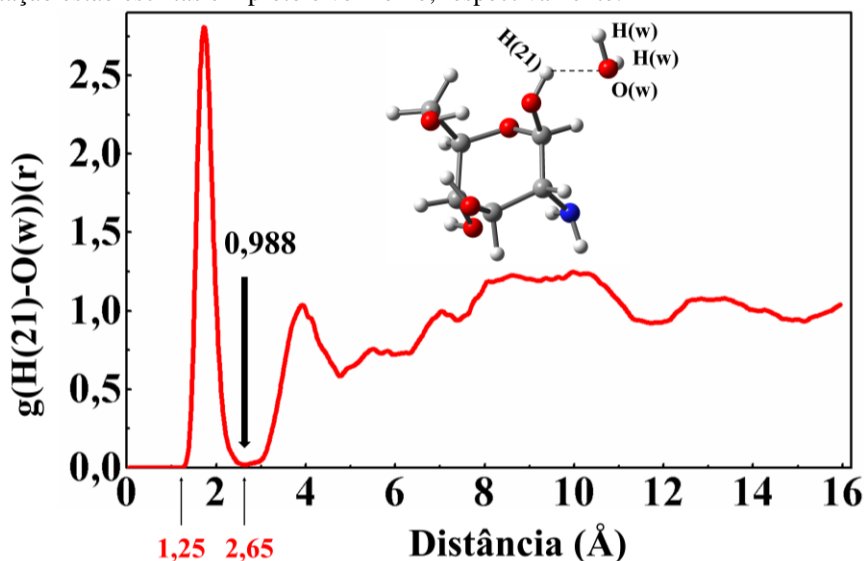
resultados levam a concluir que as moléculas de água não aproximam muito deste sítio, o que indica que, possivelmente não esteja formando uma ligação de hidrogênio estável entre o hidrogênio da molécula de água (Hw) e o sítio O(3) da GlcN, provavelmente pelo fato deste sítio estar envolvido em interações intramoleculares com o H(20), como mostra a Figura 12.

**Figura 13** - FDRP do sítio O(3) – H(w) da GlcN. A integral da área e as extremidades da primeira esfera de hidratação estão escritas em preto e vermelho, respectivamente.



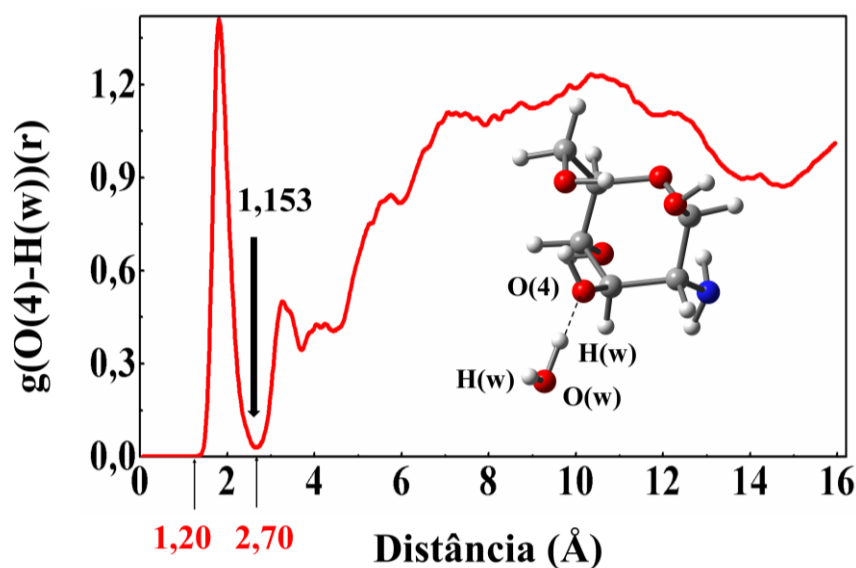
O H(21) da hidroxila O(3)-H(21) foi analisado. A primeira camada de hidratação centrada no átomo H(21) é mostrada na Figura 14. Observa-se um pico bem definido situado entre 1,25 Å e 2,65 Å. O máximo deste pico ocorre em 1,75 Å e contém em média 0,988 moléculas de água. Portanto, apresenta resultados mais satisfatórios, quanto à formação de interações com moléculas de água, do que o O(3). Concluindo que o oxigênio O(3) está formando interação intramolecular e o hidrogênio ligado a ele, H(21), formando interação com molécula de água.

**Figura 14** - FDRP do sítio H(21) – O(w) da GlcN. A integral da área e as extremidades da primeira esfera de hidratação estão escritas em preto e vermelho, respectivamente.



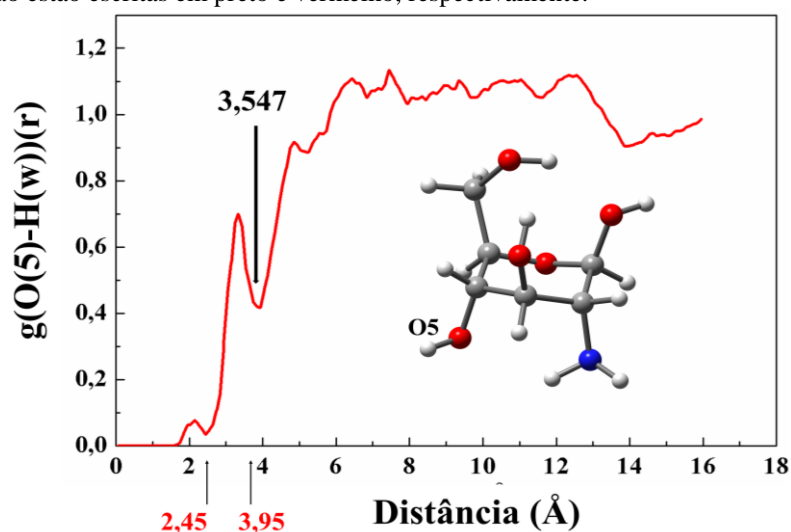
Na Figura 15, está representada a distribuição radial das moléculas de água na camada de solvatação centrada no O(4) da GlcN. O intervalo da primeira esfera de hidratação é de 1,37 Å a 2,70 Å, com pico máximo em 1,85 Å e com cerca de 1,153 átomos de H(w). A segunda camada de hidratação está próxima da primeira, em um intervalo de 2,7 Å a 3,8 Å, com o máximo do pico em 3,28 Å. Os resultados indicam uma interação intermolecular de O(4) e H(w).

**Figura 15** - FDRP do sítio O(4) – H(w) da GlcN. A integral da área e as extremidades da primeira esfera de hidratação estão escritas em preto e vermelho, respectivamente.



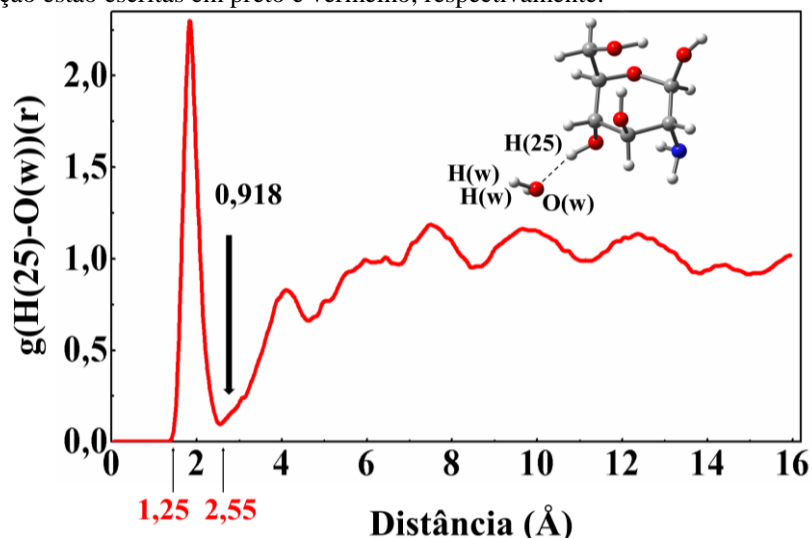
A primeira camada de hidratação centrada no átomo O(5) apresenta um pico baixo, como mostra a Figura 16 está situada cerca de 2,45 Å a 3,95 Å. O máximo deste pico ocorre em 3,37Å e tem número de coordenação com H(w) em torno de 3,547 Å no extremo máximo da primeira camada de hidratação. Contudo, só em aproximadamente 3,2 Å que o valor médio de átomos de hidrogênio é 1. Portanto, as moléculas de água ficam em média a uma distância maior que 3,2 Å, que é considerada a distância máxima para se caracterizar uma ligação de hidrogênio. Concluindo então que O(5) não forma uma ligação de hidrogênio estável com as moléculas de água.

**Figura 16** - FDRP do sítio O(5) – H(w) da GlcN. A integral da área e as extremidades da primeira esfera de hidratação estão escritas em preto e vermelho, respectivamente.



Como o oxigênio O(5) da molécula de GlcN não mostrou forte interação com os hidrogênios das moléculas de água, analisou-se a interação entre o hidrogênio desta hidroxila, H(25) e o oxigênio das moléculas de água O(w). O resultado pode ser visto no gráfico da Figura 17.

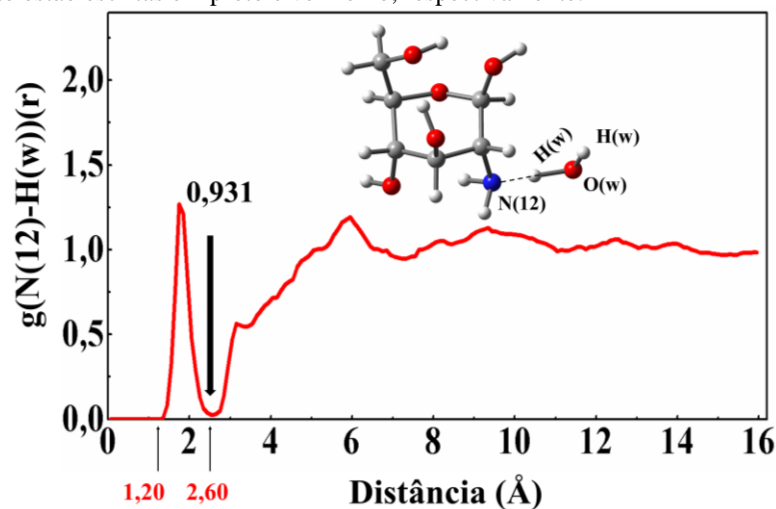
**Figura 17** - FDRP do sítio H(25) – O(w) da GlcN. A integral da área e as extremidades da primeira esfera de hidratação estão escritas em preto e vermelho, respectivamente.



A primeira camada de hidratação centrada no átomo H(25) está situada a cerca de 1,25 Å a 2,55 Å, mas o máximo deste pico ocorre em 1,85 Å e apresenta um pico bem nítido, como pode ser visto na Figura 17. O número de oxigênio da água O(w) coordenado ao H(25) é de aproximadamente 0,918. Esses resultados indicam uma possível interação estável de H(25) com as moléculas de água.

Fez-se a FDRP entre o nitrogênio, N(12) da GlcN, e os hidrogênios das moléculas de água H(w). Observa-se formação de uma interação intermolecular na primeira esfera, que compreende cerca de 1,2 Å e 2,6 Å, com pico máximo em 1,75 Å, como mostra o gráfico da Figura 18. A segunda esfera compreende o intervalo entre 2,5 Å e 7,2 Å, com pico máximo em 5,85 Å. Além disso, a segunda esfera encontra-se distante do átomo central analisado e por isso foi considerada insignificante neste estudo. Observa-se ainda, que em média 0,931 átomos de hidrogênio de molécula de água estão na primeira esfera de hidratação do sítio N(12).

**Figura 18** - FDRP do sítio N(12) – H(w) da GlcN. A integral da área e as extremidades da primeira esfera de hidratação estão escritas em preto e vermelho, respectivamente.



A Tabela 3 mostra os raios internos ( $r_{\min}$ ) e raios externos ( $r_{\max}$ ) da primeira camada de solvatação, o pico máximo ( $P_{\max}$ ) obtido da FDRP e o número médio de moléculas de água na primeira esfera de hidratação, de cada sítio analisado. Como dito anteriormente os raios externos dos sítios O(3) e O(5) são maiores que 3,2, valor máximo para se considerar ligação de hidrogênio. Contudo, os hidrogênios H(21) e H(25) que estão ligados respectivamente em O(3) e O(5) tiveram raios externos na primeira esfera de hidratação menores que 3,2 mostrando possíveis formação de ligação de hidrogênio nestes sítios.

**Tabela 3** - Valores correspondentes às distâncias mínimas e máximas, pico máximo e número médio de moléculas na primeira camada de solvatação. As distâncias mínimas e máximas e o pico máximo são dados em Angstroms (Å).

Sítio da molécula	$r_{\min}$	$r_{\max}$	$P_{\max}$	Nº médio de H <sub>2</sub> O
O(1)	1,40	2,80	1,95	0,877
O(2)	1,45	2,55	1,95	0,000
O(3)	2,35	3,65	3,25	2,590
O(4)	1,20	2,70	1,85	1,153
O(5)	2,45	3,95	3,37	3,547
H(21)	1,25	2,65	1,75	0,988
H(25)	1,25	2,55	1,85	0,918
N(12)	1,20	2,60	1,75	0,913

De cada sítio analisado pela FDRP, os átomos da GlcN que mostraram maior evidência de formação de ligação de hidrogênio com moléculas de água, foram: O(1), O(4), N(12), H(21) e H(25). Sendo que, em todos os casos, em média, apenas uma molécula de água ou um hidrogênio da molécula de água H(w) permaneceu na primeira esfera de

hidratação (Tabela 3). Sítios que interagem com o oxigênio da molécula de água O(w), como o caso de H(21) e H(25), foram analisados em relação ao número de moléculas de água. Sítios cuja interação é com o hidrogênio da água, como no caso de: O(1), O(4) e N(12) foram analisados em relação ao número de H(w), isto porque, pode ter ocorrido de H(w) estar dentro da esfera, mas não necessariamente toda a molécula de água.

Vale ressaltar que em média apenas uma molécula de água permaneceu dentro da primeira camada de solvatação, o que não significa que em alguns instantes um número maior de moléculas de água, ou de átomo de hidrogênio de molécula de água, H(w), ou mesmo nenhuma molécula de água ou H(w) estivessem dentro da primeira esfera de hidratação. Pode ter ocorrido também de uma molécula de água ter intercambiado com outra, isto é, enquanto uma molécula de água saía da primeira esfera de hidratação a outra entrava, não ficando coordenadas duas moléculas de água ao mesmo tempo, pelo menos não por um tempo suficiente pra ser evidenciado na média. Nos sítios que interagiram com H(w), da mesma forma pode ter intercalado as interações com átomos de hidrogênios diferentes, que podem ter sido da mesma molécula de água ou de moléculas de água diferentes. Para entender melhor este processo fez-se necessário o cálculo do TMR.

#### 4.2.3 TMR

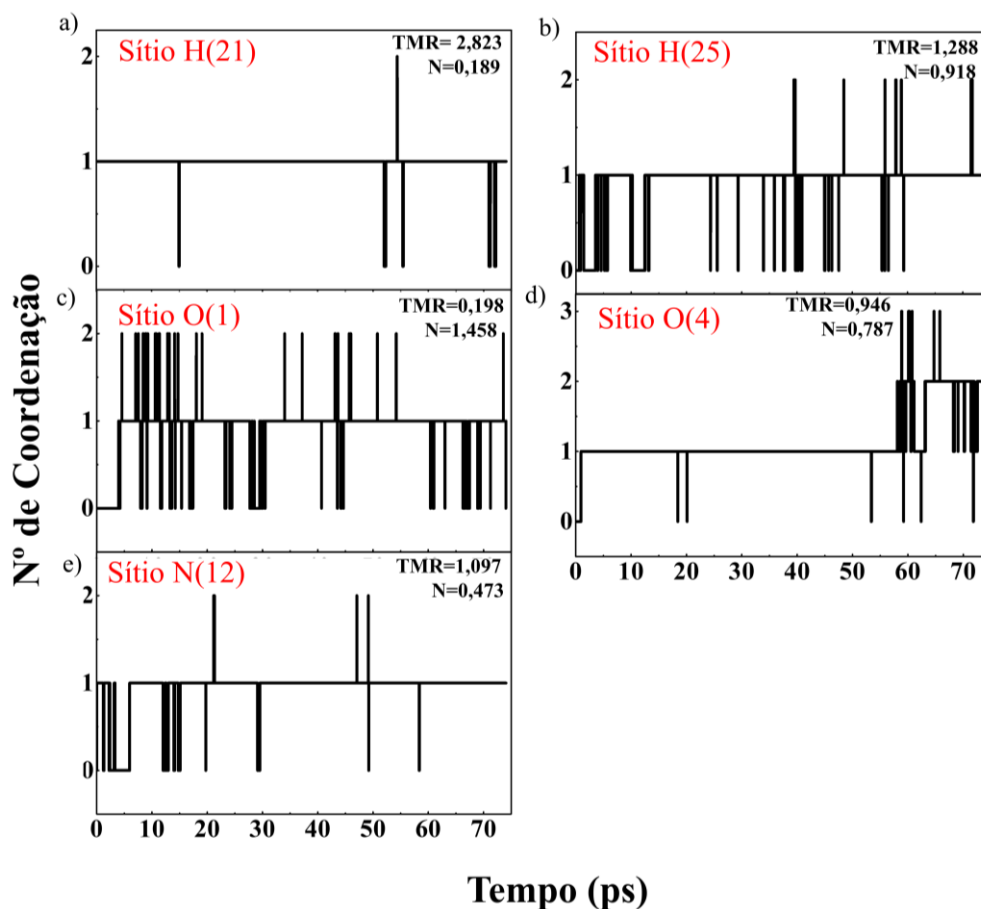
Há muito interesse em obter informações sobre a estrutura de hidratação dependente do tempo em torno de moléculas orgânicas, para melhor compreender a sua solvatação, absorção, transporte de ação, dentre outras informações. Com a finalidade de analisar o tempo de permanência de cada molécula de água na primeira esfera de hidratação da GlcN, calculou-se o TMR, isto é, o tempo médio em que a molécula de água coordenou com o soluto (SERRANO; SANTOS; GRECA, 2004). As interações com TMR maior que 0,5 ps foram caracterizadas como ligações de hidrogênio (LOCK; WOUTERSEN; BAKKER, 2001; VCHIRAWONGKWIN; KRITAYAKORNUPONG; RODE, 2010).

No gráfico da Figura 19, estão descritos os valores do TMR para cada sítio, bem como o número de vezes (N) que as moléculas de água (ou apenas hidrogênio das moléculas de água) entraram e saíram da primeira esfera de hidratação. O raio da esfera de coordenação centralizado no átomo de H(21) foi de 2,65 Å como mostra a Figura 14. O pico evidenciado indica que possivelmente uma molécula de água esteja coordenando com H(21), o que pode ser visto no gráfico da Figura 19a. Este foi o sítio que apresentou maior TMR, com um valor

de 2,823 ps e uma taxa média de troca de aproximadamente 1 troca a cada 5 ps. De acordo com o parâmetro adotado neste trabalho (0,5 ps), pode-se afirmar que houve a formação de uma ligação de hidrogênio entre o oxigênio da molécula de água e H(21). Durante quase todo o tempo de simulação, há apenas uma molécula de água coordenada na primeira esfera de hidratação, que denominaremos H(21)--O(w). Essa interação permaneceu por 73,177 ps, quase todo o tempo de simulação (74,054 ps) e entrou e saiu da esfera de hidratação 13 vezes, resultando em um TMR de 5,629 ps, o que indicou uma interação bem estável.

A Figura 19b mostra que na primeira esfera de hidratação no sítio do H(25), permaneceu uma única coordenação, na maior parte do tempo. A Figura 19b mostra também que por períodos muito curtos, é possível ter até duas moléculas dentro da esfera de hidratação. O TMR calculado para o sítio H(25) foi de 1,288 ps. As duas interações que mais permaneceram na primeira esfera de hidratação foram: H(25)--O(w) e H(25)--O(w') (os acrônimos w e w' serão usados aqui para indicar diferentes moléculas de água). Na maior parte do tempo de simulação, as interações intercalaram, ou seja, quando uma coordenava a outra não, entretanto, em alguns instantes as duas coordenaram ao mesmo tempo. A interação H(25)--O(w) permaneceu 18,024 ps, entrando e saindo apenas 6 vezes, totalizando um TMR de 3,004 ps. A interação H(25)--O(w') permaneceu na primeira esfera de hidratação por 49,425 ps, entrando e saindo 59 vezes. Portanto, o TMR desta interação foi de 0,837 ps. Embora a interação H(25)--O(w) tenha permanecido por menos tempo na esfera, quando comparada com a interação H(25)--O(w'), ela saiu menos da primeira esfera de hidratação, resultando em maior TMR do que a interação H(25)--O(w'). De acordo com o padrão adotado neste trabalho, pode-se afirmar que o átomo H(25) forma ligação de hidrogênio com os átomos de oxigênio de moléculas de água.

**Figura 19** - Os gráficos apresentam o TMR e a frequência (N) em que os átomos de H(w) e O(w) de moléculas de água entraram e saíram da primeira esfera de hidratação em picossegundos. Apresentam ainda o número de moléculas de água coordenadas na primeira esfera de solvatação nos sítios: H(21), H(25), O(1), O(4) e N(12) da GlcN.



Neste trabalho o nitrogênio e os átomos de oxigênio foram analisadas as coordenações em relação aos átomos de hidrogênio das moléculas de água. Este procedimento foi realizado em função do interesse em descrever as possíveis ligações de hidrogênio formadas entre os átomos N e O da GlcN, e os hidrogênios das moléculas de água. O menor TMR foi observado no sítio do O(1), 0,198 ps, que é inferior ao tempo de vida médio de uma ligação de hidrogênio, definido em 0,5 ps. No entanto, o cálculo do TMR considerou a média de hidrogênios de todas as moléculas de água que entraram e saíram da primeira esfera de hidratação. Contudo, uma molécula de água pode ter residido mais tempo na primeira esfera, formando uma ligação de hidrogênio, mesmo que em média ela não tenha sido evidenciada. Por isso, mesmo com TMR de 0,198 ps este sítio foi investigado.

A Figura 19c mostra que existe uma alta frequência de troca dos átomos de hidrogênio das moléculas de água na primeira esfera de hidratação com sítio O(1), entretanto, os dados mostram que existem vários períodos nos quais um átomo de hidrogênio permanece

na esfera de coordenação. Portanto, pode-se afirmar que houve interações de moléculas de água com o sítio O(1). A Figura 19c também mostra que, por curtos períodos, até dois átomos de hidrogênio puderam coordenar-se com o átomo de O(1). Os dados obtidos desta análise mostraram que os hidrogênios que coordenaram com O(1) pertenciam à mesma molécula de água. Em alguns momentos, estas duas interações ocorreram ao mesmo tempo, mas na maior parte do tempo ocorreram de forma intercalada. Por isso, a integral da FDRP mostrou apenas uma coordenação neste sítio.

No sítio O(1), observou-se então, a formação de duas interações com os dois hidrogênios de uma mesma molécula de água, que serão representados por: H(w) e H(w1). A interação O(1)--H(w) permaneceu na primeira camada de hidratação por aproximadamente 43,080 ps, entrando e saindo da primeira esfera de hidratação por 57 vezes, totalizando um TMR de 0,755 ps. A interação com o outro hidrogênio O(1)--H(w1) permaneceu por 21,701 ps, enquanto o hidrogênio H(w1) entrou e saiu da primeira esfera de hidratação 37 vezes. Conseqüentemente, esta interação teve um TMR de 0,571 ps. Portanto, as duas interações tiveram TMR compatível com formação de ligação de hidrogênio.

A Figura 19d mostra que o TMR dos átomos de hidrogênio das moléculas de água no sítio O(4) foi de 0,946 ps. Mas nos primeiros 58 ps da simulação, apenas um hidrogênio da molécula de água permaneceu dentro da esfera de coordenação. Posteriormente, nota-se até dois átomos de hidrogênio que coordenam com o átomo de O(4), inclusive, por curtos períodos foram observados até três átomos de hidrogênio coordenados com O(4). Observou-se ainda que os hidrogênios que coordenaram com O(4) pertenciam a diferentes moléculas de água. As duas interações que mais prevaleceram foram: O(4)--H(w) e O(4)--H(w'). A interação O(4)--H(w) permaneceu por 72,752 ps, quase todo o tempo de simulação, o H(w) entrou e saiu da primeira esfera de hidratação 33 vezes. Portanto, o TMR desta interação foi de 3,303 ps. A interação O(4)--H(w') permaneceu 12,512 ps na primeira esfera de hidratação, entrando e saindo desta esfera por 28 vezes, com TMR de 0,446 ps. A partir deste resultado, pôde-se concluir que o átomo de O(4) forma uma ligação de hidrogênio estável.

O sítio N(12) teve TMR de 1,097 ps (Figura 19e). Por cerca de 90% do tempo total de simulação (74,054 ps), isto é, 66,59 ps, um hidrogênio de uma molécula de água H(w) coordenou com o átomo N(12), que entrou e saiu da esfera de hidratação 22 vezes, resultando em um TMR de 3,026 ps. Um hidrogênio de uma segunda molécula de água, H(w') também coordenou com o nitrogênio por um período muito curto de tempo (2,334 ps), ao entrar e sair da esfera de hidratação 6 vezes, resultando em um TMR de 0,389 ps. A partir destes

resultados pôde-se concluir que o átomo N(12) formou uma ligação de hidrogênio estável com um átomo de hidrogênio de uma molécula de água.

#### 4.2.4 Caracterização das Ligações de Hidrogênio por Parâmetros Geométricos e Energéticos

Depois de identificadas as ligações de hidrogênio, os parâmetros geométricos e energéticos foram usados para caracterizá-las. A Tabela 4 mostra os valores médios obtidos usando a simulação da DMCP para os parâmetros geométricos envolvidos nas ligações de hidrogênio. As três primeiras linhas da Tabela 4 mostram os resultados dos cálculos para as ligações intramoleculares de GlcN. Os comprimentos das interações de ligação de hidrogênio intramoleculares: H(20)--O(3), H(22)--O(2) e H(23)--O(5), são: 1,77 Å, 1,79 Å e 2,47 Å, respectivamente. Já os ângulos das ligações intramoleculares de hidrogênio são: 159,66°, 150,31° e 120,16°, na devida ordem. Portanto, pela classificação de Jeffrey (1997), as duas primeiras ligações de hidrogênio intramoleculares apresentaram intensidade moderada (distância dentro do intervalo de 1,5 Å a 2,2 Å e ângulo acima de 130°), já a terceira foi considerada fraca (distância maior que 2,4 Å e ângulo acima de 90 °). A partir dos parâmetros geométricos calculados, pôde-se concluir que as ligações intramoleculares analisadas são estáveis. A trajetória da simulação mostrou ainda que, uma vez formadas as interações intramoleculares, elas persistem por todo tempo de simulação (JEFFREY, 1997).

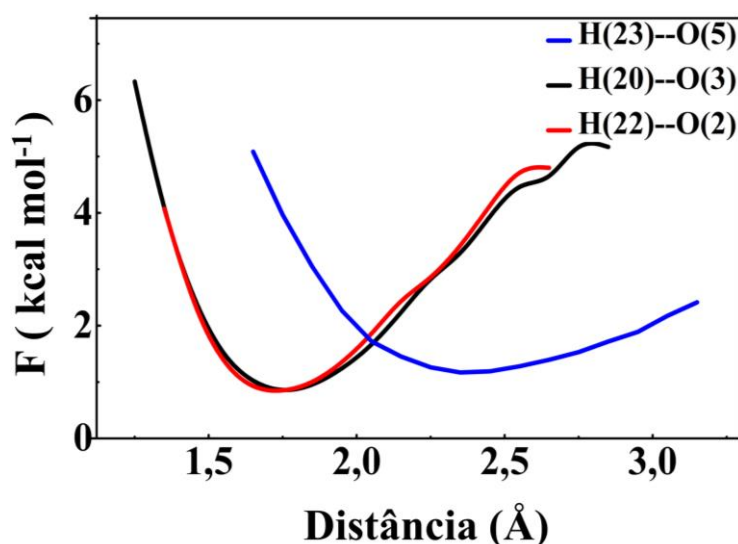
**Tabela 4** - Valores médios das Distâncias (Å) e ângulos (°) das ligações de hidrogênio intra e intermolecular observadas na solvatação aquosa da GlcN. Os acrônimos w e w' indicam moléculas de água diferentes e H(w) e H(w1) indica hidrogênio da mesma molécula de água.

Interação	Distância	Interação	Ângulo
H(22)--O(2)	1,77±0,16	O(4)–H(22)--O(2)	159,66±7,95
H(20)--O(3)	1,79±0,16	O(2)–H(20)--O(3)	150,31±10,11
H(23)--O(5)	2,47±0,28	N(12)–H(23)--O(5)	120,16±11,13
H(21)--O(w)	1,82±0,19	O(3)-H(21)--O(w)	164,32±8,52
H(25)--O(w)	1,95±0,21	O(5)-H(25)--O(w')	168,20±6,16
H(25)--O(w')	1,88±0,18	O(5)-H(25)--O(w')	160,93±11,23
O(1)--H(w)	2,06±0,25	O(1)--H(w)–O(w)	157,76±3,97
O(1)--H(w1)	2,17±0,25	O--H(w')–O(w')	156,28±13,33
O(4)--H(w)	1,92±0,21	O(4)--H(w')–O(w')	162,23±9,60
O(4)--H(w')	2,05±0,26	O(4)--H(w)–O(w)	154,56±15,82
N(12)--H(w)	1,88±0,12	N(12)--H(w)–O(w)	163,61±7,64

As últimas oito linhas da Tabela 4 mostram os resultados dos cálculos dos parâmetros geométricos para as ligações de hidrogênio formadas entre a GlcN e as moléculas de água. As moléculas de água selecionadas para serem analisadas foram as que apresentaram um tempo médio de permanência significativo, conforme descrito na seção de análise do TMR. Note que para os sítios: H(25), O(1) e O(4) foram investigadas duas interações com moléculas de água. Sendo que H(25) e O(4) interagiram com hidrogênios de diferentes moléculas de água, e O(1) interagiu com hidrogênios da mesma molécula de água. No caso de H(21) e N(12), apenas uma interação foi investigada, devido aos baixos valores de TMR encontrados para outras interações. Todas as ligações de hidrogênio entre a GlcN e moléculas de água investigadas apresentaram distância de ligação entre 1,7 Å a 2,2 Å e ângulos superiores a 150° e menor que 170°. Portanto, pela classificação de Jeffrey (1997) (JEFFREY, 1997), todas estas interações caracterizam-se como ligações de hidrogênio de intensidade moderada.

A Figura 20 mostra que as três ligações intramoleculares de hidrogênio são termodinamicamente favoráveis, sendo duas delas com a energia livre de Helmholtz ( $\Delta F$ ) em torno de  $-4,0 \text{ kcal mol}^{-1}$ , e uma, H(23)--O(5), menos estável, com uma curva de energia mais rasa.

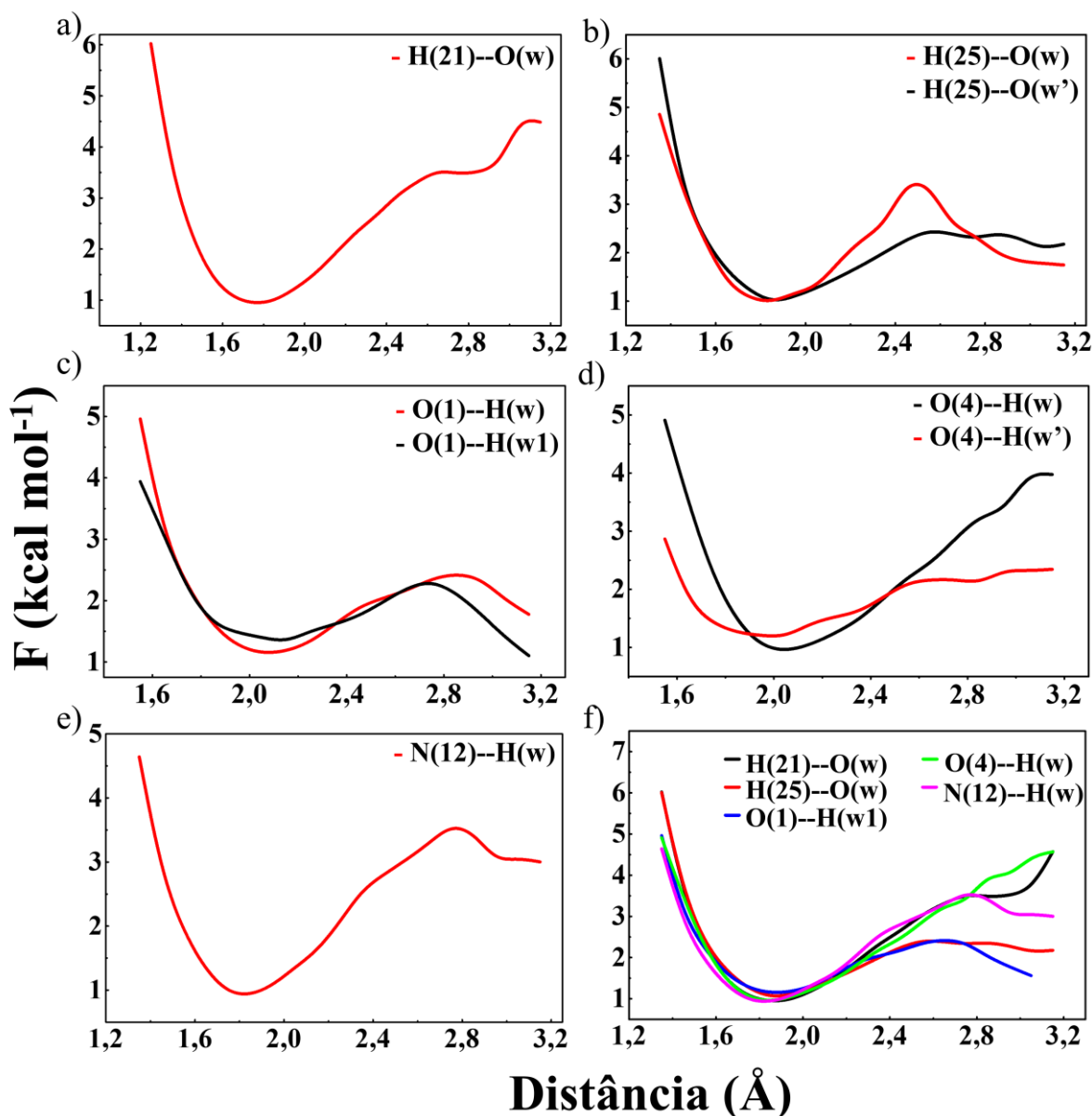
**Figura 20** - Energia livre de Helmholtz em função da distância nos sítios que apresentaram interação intramolecular: H(20)--O(3), H(22)--O(2) e H(23)--O(5).



As energias livres de Helmholtz em função do comprimento da ligação de hidrogênio foram estimadas para as interações intermoleculares entre GlcN e molécula de H<sub>2</sub>O, que tiveram maiores TMR de cada sítio, como mostra a Figura 21a até a Figura 21e.

Observe que a variação da energia livre de Helmholtz para as ligações de hidrogênio entre a GlcN e as moléculas de água são todas negativas, com valores em torno de  $-2,5 \text{ kcal mol}^{-1}$ , exceto H(25)--O(w) e O(1)--H(w), que apresentam valores de  $\Delta F$  em torno de  $-1,3 \text{ kcal mol}^{-1}$ . Estes resultados indicam que as ligações intermoleculares de hidrogênio selecionadas são termodinamicamente favoráveis. As ligações de hidrogênio com maior barreira energética são: H(21)--O(w) e N(12)--H(w).

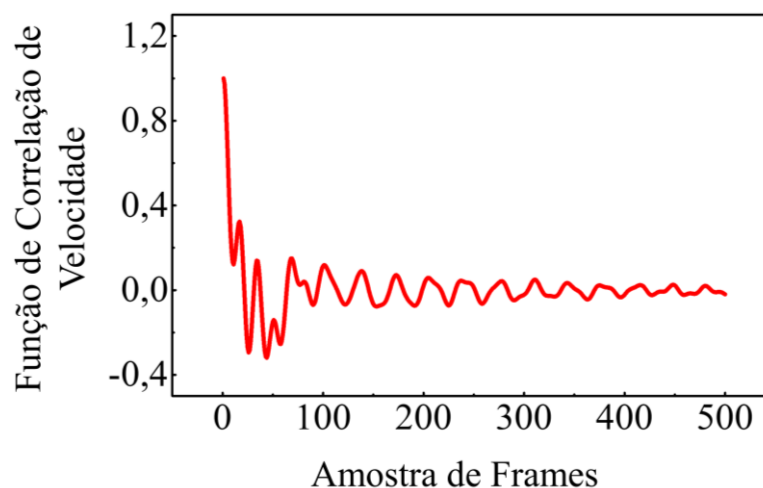
**Figura 21** - Energia livre de Helmholtz em função da distância, nos sítios: a) H(21), b) H(25), c) O(1), d) O(4) e e) N(12) da GlcN com moléculas de água. As energias são dadas em  $\text{kcal mol}^{-1}$ . O índice w representa átomo de molécula de água. Sendo que w1 referente ao segundo hidrogênio da mesma molécula de água e w' átomo de uma segunda molécula de água.



#### 4.2.5 Análise de QTAIM das Ligações de Hidrogênio Formadas na Solvatação Aquosa da GlcN

A função de correlação da velocidade do sistema: GlcN–H<sub>2</sub>O foi analisada, a fim de selecionar frames com velocidades não correlacionadas. O gráfico da Figura 22 mostra que nos frames iniciais as velocidades estão altamente correlacionadas, mas a partir do centésimo frame, aproximadamente, a correlação tende a zero. Portanto, para análises neste sistema, em que a não correlação é importante, as seleções de frames devem ser realizadas em intervalos maiores que 100, o que foi garantido nas análises de QTAIM.

**Figura 22** - Gráfico da Função de Correlação de Velocidade da trajetória da GlcN em meio aquoso.



A QTAIM está entre as ferramentas mais poderosas para análise aprofundada da natureza de interações intermoleculares, como por exemplo, as ligações de hidrogênio (BOYD et al., 2007a; KUMAR; RAGHAVENDRA; SUBRAMANIAN, 2016). A QTAIM foi usada a fim de caracterizar a natureza e intensidades das ligações de hidrogênio intramoleculares e as formadas entre as moléculas de GlcN e de água. Ressalta-se que foram consideradas duas configurações para esta análise, sendo correspondentes a menor e a maior distância entre os átomos da interação. Garantiu-se que estes frames não fossem correlacionados.

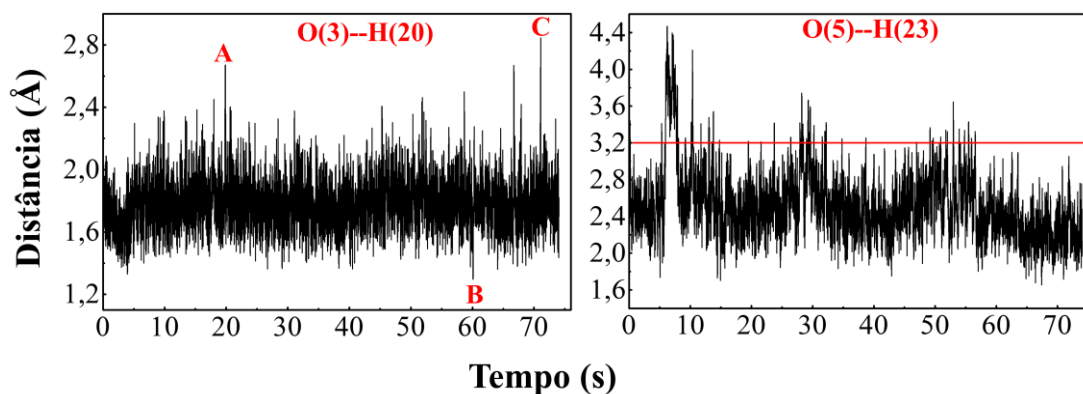
A Tabela 5 mostra a ligação de hidrogênio intramolecular O(2)--H(22), considerando a maior e a menor distância entre os átomos da interação, em ambas as distâncias houve densidade eletrônica não nula no ponto crítico e a intensidade da interação variou de fraca a moderada em ambos os casos.

**Tabela 5** - Parâmetros Topológicos (em ua) do ponto crítico das interações intramoleculares da GlcN usando frames das extremidades das ligações, não correlacionados, da simulação de DMCP, com o nível de teoria M06-2X/6-31G\*\*. Os parâmetros:  $\rho(r)$ ,  $G(r)$ ,  $V(r)$  e  $\nabla^2\rho(r)$  estão em unidades atômicas / ua. A distância dada em Angstrom (Å).

Interação	d(Å)	$\rho(r)$	$G(r)$	$V(r)$	$E(r)$	$\nabla^2\rho(r)$	$-V(r)/G(r)$	Intensidade
O(2)--H(22)	1,31	0,12	0,11	-0,18	-0,07	0,14	1,67	Moderada
	2,66	0,02	0,02	-0,02	0,00	0,09	0,91	Fraca
O(3)--H(20)	1,30	0,12	0,10	-0,17	-0,07	0,08	1,78	Moderada
	2,67	0,01	0,00	0,00	0,00	0,02	0,85	Fraca
O(5)--H(23)	1,65	0,05	0,05	-0,06	-0,01	0,17	1,12	Moderada

As interações O(3)--H(20) e O(5)--H(23) apresentaram algumas peculiaridades. Em ambas, não se observou ponto crítico entre os átomos da interação, considerando a maior distância registrada na trajetória. Analisando a trajetória, percebe-se que para O(3)-H(20), apenas em um pequeno intervalo de tempo, compreendido entre 71,068 ps e 71,084 ps (pico C), do gráfico da Figura 23a, os átomos estavam distantes o suficiente para não haver interação. Ao se eliminar este intervalo da trajetória, o próximo extremo de maior distância foi de 2,671 Å (pico A) do gráfico da Figura 23a. Nesta geometria, foi constatada uma interação caracterizada como fraca. Portanto, desprezou-se o intervalo de tempo (71,068 ps a 71,084 ps), por ser bem irrisório comparado com os 74,054ps totais e adotou-se como maior distância 2,671 Å. Já, na menor distância da interação (pico B) do gráfico da Figura 23a, tem se uma interação moderada (Tabela 5), podendo afirmar que durante a trajetória, esta interação variou entre fraca e moderada.

**Figura 23** - Distância das interações O(3)-H(20) e O(5)-H(23) ao longo da trajetória. a) A, B e C representam os extremos das distâncias e a linha; b) a linha horizontal em vermelho indica a distância máxima de uma interação do tipo ligação de hidrogênio.



A interação O(5)--H(23) em vários momentos distanciou além do valor máximo considerado para uma ligação de hidrogênio (3,2 Å), como indica a linha vermelha na horizontal da Figura 23b. Portanto, as maiores distâncias não apresentaram o ponto crítico entre os átomos. Sendo assim, só na extremidade de menor distância foi realizada a análise topológica, sendo considerada nesta extremidade, uma interação moderada. Concluindo que é uma interação intramolecular não consistente. Apenas na configuração correspondente a menor distância de interação, na simulação, que se observou uma intensidade moderada, com as análises de QTAIM realizada. Contudo, em vários instantes da simulação, as distâncias da interação foram maiores que o mínimo esperada para ligação de hidrogênio. Em outros instantes, considerando as distâncias médias das configurações, ao longo da trajetória, foi classificada como interação fraca, segundo a classificação de Jeffrey.

A Tabela 6 mostra as propriedades topológicas para as maiores e menores distâncias dos átomos das interações intermoleculares analisadas, encontra-se ainda a classificação da intensidade de cada interação. Apenas a interação mais estável de cada sítio foi analisada.

**Tabela 6** - Parâmetros topológicos da densidade do ponto crítico das interações intermoleculares calculadas com o nível de teoria M06-2X/6-311++G\*\*. Os parâmetros:  $\rho(r)$ ,  $G(r)$ ,  $V(r)$  and  $\nabla^2\rho(r)$  estão em unidades atômicas (ua). A distância é dada em Angstrom (Å).

Interação	D	$\rho(\mathbf{r})$	$G(\mathbf{r})$	$V(\mathbf{r})$	$E(\mathbf{r})$	$\nabla^2\rho(\mathbf{r})$	$-V(\mathbf{r})/G(\mathbf{r})$	Intensidade
H(21)--O(w)	1,28	0,13	0,09	-0,18	-0,08	0,05	1,87	moderada
	2,65	0,01	0,01	-0,01	0,00	0,03	0,90	fraca
H(25)--O(w)	1,32	0,12	0,10	-0,16	-0,06	0,15	1,63	moderada
	2,56	0,01	0,01	-0,01	0,00	0,03	0,91	fraca
O(1)-H-(w)	1,47	0,08	0,07	-0,09	-0,02	0,20	1,31	moderada
	2,79	0,00	0,00	-0,00	0,00	0,02	0,64	fraca
O(4)--H(w)	1,33	0,11	0,10	-0,16	-0,05	0,19	1,54	moderada
	2,70	0,01	0,00	0,00	0,00	0,02	0,79	fraca
N(12)--H(w)	1,33	0,13	0,07	-0,16	-0,09	-0,05	2,18	forte
	2,60	0,01	0,01	-0,04	0,00	0,02	0,82	fraca

A Tabela 6 mostra que a densidade eletrônica para a maior distância de cada interação variou de 0,04 ua a 0,08 ua. Para as menores distâncias de cada interação, o intervalo foi de 0,077 ua a 0,131 ua. Para maiores distâncias entre os átomos da interação, as ligações de hidrogênio: H(21)--O(w), H(25)--O(w), O(1)--H(w), O(4)--H(w) e N(12)--H(w), caracterizam-se como interações fracas, uma vez que  $\nabla^2\rho(\mathbf{r}) > 0$  e  $E(\mathbf{r}) > 0$ . Levando em conta as distâncias mais curtas entre os átomos das ligações de hidrogênio: H(21)--O(w), H(25)--O(w), O(1)--H(w) e O(4)--H(w), as interações são consideradas moderadas, pois apresentam  $\nabla^2\rho(\mathbf{r}) > 0$  e  $E(\mathbf{r}) < 0$ . Vale ressaltar que para a menor distância de interação, a

ligação de hidrogênio N(12)--H(w) apresenta  $\nabla^2\rho(\mathbf{r}) < 0$  e  $E(\mathbf{r}) < 0$ , o que a caracteriza como uma interação forte.

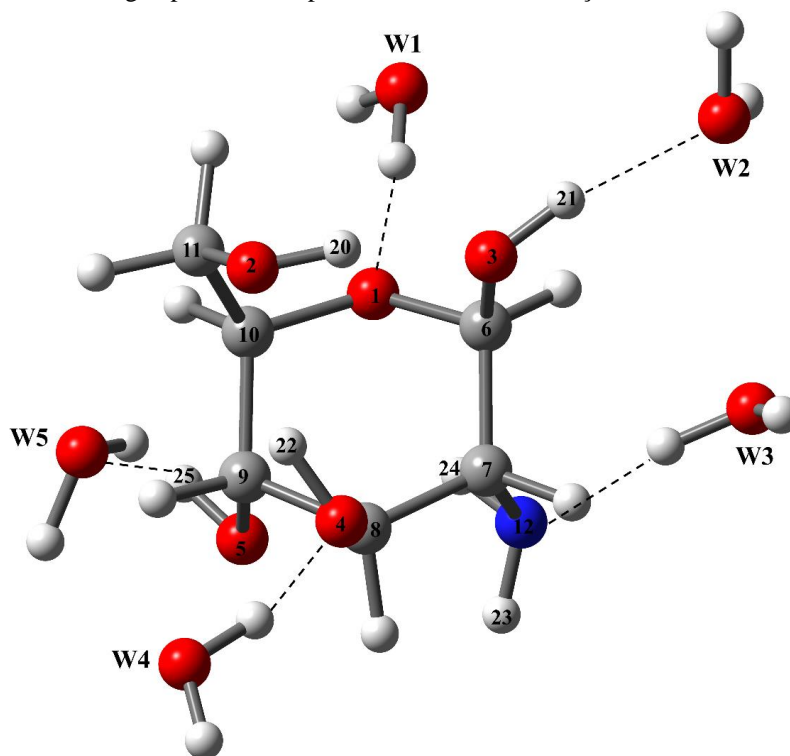
Todas as ligações de hidrogênio apresentaram  $1 < |V(\mathbf{r})|/G(\mathbf{r}) < 2$ , quando os átomos da interação estavam a menores distâncias, indicando carácter parcialmente covalente (BOYD et al., 2007). Exceto a ligação de hidrogênio formada entre N(12)--H(w) que apresentou carácter predominante covalente, uma vez que os resultados mostraram  $|V(\mathbf{r})|/G(\mathbf{r}) > 2$ ,  $\nabla^2\rho(\mathbf{r}) < 0$  e  $E(\mathbf{r}) < 0$  (BOYD et al., 2007).

A classificação de Jeffrey (1997) para a ligação de hidrogênio entre a GlcN e as moléculas de água (intensidade moderada) foi realizada considerando comprimentos e ângulos das ligações de hidrogênio. Estes parâmetros geométricos foram obtidos dos valores médios encontrados na simulação de DMCP da GlcN solvatada. Já, a análise de QTAIM aqui apresentada, foi realizada para os comprimentos de ligação mais curtos e maiores, de cada interação. Para os comprimentos mais curtos das interações, os resultados da análise da intensidade das interações realizadas pela QTAIM concordaram bem com a classificação proposta por Jeffrey.

#### 4.2.6 Análise de NBO das Ligações de Hidrogênio Formadas na Solvatação

A análise de NBO é fundamental para auxiliar na explicação de interações. No formalismo da NBO, a deslocalização eletrônica é chamada de hiperconjugação. A energia de hiperconjugação pode ser estimada pela energia de segunda ordem  $E(2)$ , assim, quanto mais intensa é a deslocalização da densidade de elétrons, maior é a estabilização da interação doador-receptor. A Figura 24 ajuda a compreender os locais das ligações de hidrogênio mais intensas formadas entre cada sítio da GlcN e moléculas de água (W1, W2, W3, W4 e W5).

**Figura 24** - Rótulo da estrutura de GlcN solvatada por 5 moléculas de água. W1, W2, W3, W4 e W5 representam as moléculas de água presentes na primeira esfera de hidratação da GlcN.



A Tabela 7 mostra os resultados do cálculo para a análise do NBO. Para o maior comprimento da ligação de hidrogênio, as energias de estabilização mais importantes da GlcN com as moléculas de água: W1, W2, W3, W4 e W5 (Figura 24), foram: 0,08, 0,28, 1,06, 0,17 e 0,71 kcal mol<sup>-1</sup>, respectivamente. Para o comprimento médio da ligação de hidrogênio, as energias de hiperconjugação foram, na sequência, 3,91, 14,70, 15,31, 4,60, 7,25 kcal mol<sup>-1</sup>. Para o menor comprimento das ligações de hidrogênio, os valores calculados foram 40,27, 113,3, 124,04, 77,89 e 93,81 kcal mol<sup>-1</sup>, respectivamente. Vale à pena notar que, para o menor comprimento da ligação de hidrogênio, os átomos estavam tão próximos que eles têm energia de interação semelhante à energia de uma ligação covalente.

É importante notar que as energias de estabilização mais intensas entre GlcN e moléculas de água, são de interações resultantes da hiperconjugação entre pares de elétrons livres dos átomos de oxigênio,  $n_1(O)$  e nitrogênio  $n_1(N)$  da GlcN com orbitais antiligantes de moléculas de água,  $\sigma^*(Ow - Hw)$  ou do oxigênio de moléculas de água  $n_1(Ow)$  com orbitais antiligantes de algum sítio da GlcN. Os resultados das análises de NBO mostraram que as cinco interações analisadas são estáveis, concordando com os resultados de QTAIM. A interação classificada como mais forte pela análise de QTAIM foi N(12)--H(w), sendo a ligação de hidrogênio que apresentou também melhor energia de estabilização pela análise de NBO, com valor de 15,31 kcal mol<sup>-1</sup> para a distância média de interação.

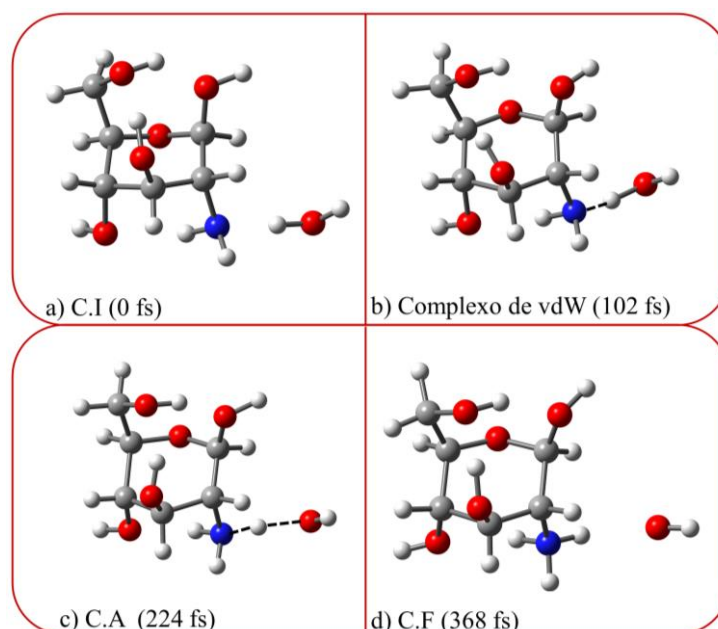
**Tabela 7** - Principais orbitais doadores e receptores e a energia de interação de segunda ordem  $E_{(2)}$ , em kcal mol<sup>-1</sup>, das interações das moléculas de água e os sítios da GlcN, calculado em nível de teoria M06-2X/6-311++G\*\*. RY\* representa orbitais de Rydberg antiligante.

Doador (i)	Receptor (j)	$E_{(2)}$ kcal mol <sup>-1</sup> Distância Menor	$E_{(2)}$ kcal mol <sup>-1</sup> Distância Maior	$E_{(2)}$ kcal mol <sup>-1</sup> Distância Média
GlcN – W1				
$n_{CR(1)}(O1)$	$\sigma^*(Ow - Hw1)$	0,73		
$n_1(O1)$	$\sigma^*(Ow1 - Hw1)$	2,67	0,08	
$n_2(O1)$	$\sigma^*(Ow1 - Hw1)$	40,27	0,06	3,91
$n_2(O1)$	$RY_2^*(Hw1)$	0,58		
$\sigma(w1 - Hw1)$	$RY_2^*(O1)$	0,51		
$\sigma(Ow1 - Hw1)$	$\sigma^*(O1 - C6)$	0,59		
GlcN – W2				
$\sigma^*(O3 - H21)$	$\sigma^*(Ow - Hw)$	0,63		
$\sigma^*(O3 - H21)$	$\sigma^*(Ow - Hw)$	2,66		
$n_1(Ow)$	$\sigma^*(O3 - H21)$	7,61		0,52
$n_2(Ow)$	$\sigma^*(O3 - H21)$	113,13	0,28	14,70
$n_{CR(1)}(Ow)$	$\sigma^*(O3 - H21)$	4,33		
GlcN – W3				
$\sigma(N12 - H23)$	$\sigma^*(Ow - Hw)$	1,57		
$\sigma(N12 - H24)$	$\sigma^*(Ow - Hw)$	2,48		0,28
$n_{CR(1)}(N12)$	$\sigma^*(Ow - Hw)$	3,75		
$n_1(N12)$	$RY_2^*(Hw)$	0,56		0,17
$n_1(N12)$	$RY_5^*(Hw)$	0,56		0,10
$n_1(N12)$	$\sigma^*(Ow - Hw)$	124,04	1,06	15,31
$\sigma^*(Ow - Hw)$	$\sigma^*(N12 - H23)$	2,03		0,19
$\sigma^*(Ow - Hw)$	$\sigma^*(N12 - H24)$	0,75		
$\sigma(C7-N12)$	$\sigma^*(Ow1 - Hw1)$	3,94		
GlcN – W4				
$\sigma(O4 - C8)$	$\sigma^*(Ow - Hw)$	0,73		
$\sigma(O4 - H22)$	$\sigma^*(Ow - Hw)$	1,26		
$n_{CR(1)}(O4)$	$\sigma^*(Ow - Hw)$	2,23		0,11
$n_2(O4)$	$\sigma^*(Ow - Hw)$	77,89	0,17	2,66
$n_1(O4)$	$\sigma^*(Ow - Hw)$	1,06		4,60
$n_1(O4)$	$RY_1^*(Hw)$	0,61		
$\sigma(Ow - Hw)$	$RY_2^*(O4)$	0,60		
$\sigma(Ow - Hw)$	$\sigma^*(O4 - C9)$	0,83		
GlcN – W5				
$\sigma(Ow - Hw)$	$\sigma^*(O5 - H25)$	2,96		0,22
$\sigma(Ow - Hw)$	$\sigma^*(O5 - H25)$	3,75		0,47
$n_{CR(1)}(Ow)$	$\sigma^*(O5 - H25)$	3,12		
$n_1(Ow)$	$\sigma^*(O5 - H25)$	2,22		0,15
$n_2(Ow)$	$RY_1^*(H25)$	1,25		
$n_2(Ow)$	$RY_2^*(H25)$	1,04		
$n_2(Ow)$	$RY_6^*(H25)$	0,67		
$n_2(Ow)$	$\sigma^*(O5 - H25)$	93,31	0,71	7,25

### 4.3 Transferência de Hidrogênio via Metadinâmica

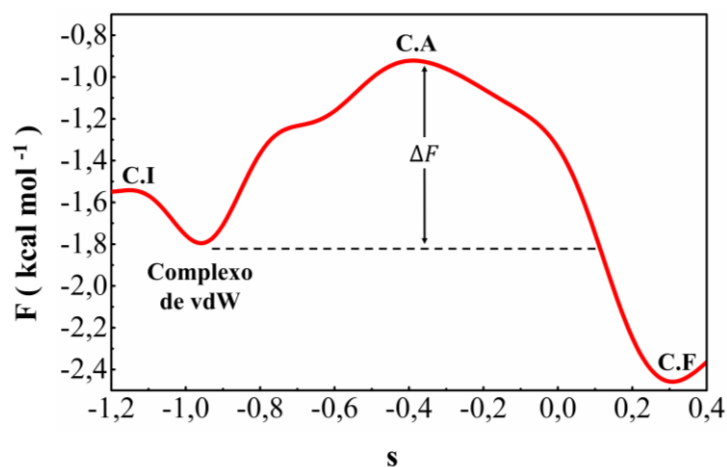
Os resultados da análise da ligação de hidrogênio mostraram que a interação N(12)--H(w) é forte, persistindo ao longo da trajetória de simulação. Em particular, a análise QTAIM mostrou que a ligação de hidrogênio é parcialmente covalente. A análise NBO evidenciou que essa interação apresenta a maior estabilização da energia de hiperconjugação, quando comparada com as outras ligações de hidrogênio analisadas. Além disso, a protonação do grupo amino em meio ácido é verificada experimentalmente (KUMAR, 2000; WANGAH; TEONG; HANAFIAH, 2011; ZHANG; ZENG; CHENG, 2016). No entanto, uma trajetória de 74,054 ps usando DMCP não foi longa o suficiente para observar a transferência de prótons da molécula de água para o grupo amino da GlcN. Assim, a técnica de Metadinâmica foi empregada para acelerar o processo de amostragem na dinâmica de protonação do grupo amino. A Figura 25 mostra a geometria da configuração inicial (CI), configuração correspondente à formação do complexo de van der Waals (vdW), configuração correspondente ao complexo ativado (CA) e configuração final (CF) da simulação realizada.

**Figura 25** - Esquema que mostra o processo de transferência do próton da molécula de água ao grupo amino da GlcN. Por uma questão de clareza, o esquema mostra apenas a molécula de água envolvida no processo de protonação. a) Configuração inicial (CI) b) complexo de vdW; c) Complexo ativado (C.A); d) Configuração final (CF).



Com os resultados da simulação usando a técnica de Metadinâmica, foi construída a curva de energia livre de Helmholtz ( $F$ ) em função da variável coletiva (do inglês, *Collective Variable* - CV), aqui, dada por:  $s = d_{H(w)-O(w)} - d_{N(12)-H(w)}$  (Figura 26)

**Figura 26** - Perfil da energia livre de Helmholtz ( $F$ ) em função da variável coletiva  $s = d_{H(w)-O(w)} - d_{N(12)-H(w)}$  da simulação de metadinâmica.



A Figura 26 mostra o perfil de energia livre de Helmholtz da transferência de prótons da molécula de água para o grupo de amino da GlcN em função da evolução da CV na Metadinâmica. O processo de protonação começa no início da simulação e termina em cerca de 368 fs. A formação do complexo de vdW ocorre em cerca de 102 fs com uma barreira energética estimada em  $0,3 \text{ kcal mol}^{-1}$ . O C.A ocorre em cerca de 224 fs, com uma barreira de energia estimada de  $0,88 \text{ kcal mol}^{-1}$ . Vale ressaltar que esse valor está ligeiramente acima do valor de  $k_B T$  ( $0,59 \text{ kcal mol}^{-1}$ ). Este resultado indica que, se a simulação de DMCP for longa o suficiente, pode ser observada a protonação.

A Tabela 8 mostra os parâmetros geométricos para a simulação de metadinâmica nos pontos críticos da curva de energia livre de Helmholtz (Figura 26).

**Tabela 8** - Parâmetros geométricos entre a GlcN e uma molécula de água nos pontos críticos da curva de energia livre Helmholtz (ver Figura 26). Os comprimentos de ligações são dados em Å, e os ângulos são dados em graus ( $^\circ$ ). CI representa configuração inicial, vdW representa Van der Waals, C. A complexo ativado e CF referem-se à configuração final.

Configurações	Distância da interação		Ângulo de ligação
	N(12)--H(w)/H(w)-O(w)		N(12)--H(w)-O(w)
C.I	1,83/1,04		176,8 $^\circ$
Complexo de vdW	1,57/1,07		170,8 $^\circ$
C.A	1,36/1,18		174,6 $^\circ$
C.F	1,10/1,40		167,2 $^\circ$

O comprimento da ligação N(12)--H(w) e o ângulo N--H(w)-O(w) no início da simulação da Metadinâmica são  $1,83\text{Å}$  e  $176,8^\circ$ , respectivamente. Estes parâmetros geométricos mostram claramente uma ligação de hidrogênio na configuração inicial (CI) (Figura 25a). À medida que H(w) se aproxima do nitrogênio, o ângulo N(12)--H(w)-O(w)

diminui de 176,8° para 167,2°. No C.A (Figura 25c e Figura 26), as distâncias N(12)--H(w) e H(w)-O(w) são, respectivamente, 1,36 Å e 1,18 Å. Portanto, o C.A ocorre com o H(w) ligado parcialmente ao O(w). Após a conclusão da transferência do próton, o oxigênio do grupo hidroxila aponta para o grupo amino e estabelece interação eletrostática (Figura 25d).

A protonação do grupo amino da GlcN é um resultado bastante interessante, uma vez que como dito anteriormente, na literatura tem relatos de que a protonação da GlcN na forma polimérica é ativa contra infecções por bactéria, como *Escherishia coli* e fungos, como: *Fusarium Alternaria* (KUMAR et al., 2011) e *Helminthosporium*, dentre outros microorganismos (MUCCI et al., 2017). Além da análise sobre a solvatação da GlcN, outra investigação em nível molecular de interesse, é a complexação da GlcN com metais. Nas próximas subseções serão detalhados os estudos de GlcN e íons cálcio e cobalto II.

#### 4.4 Complexação da GlcN com Cálcio

Quatro configurações iniciais diferentes de interação entre a GlcN e o íon cálcio (GlcN\_Ca<sup>2+</sup>) foram simuladas, resultando em quatro trajetórias (T-1, T-2, T-3 e T-4). Em todas as trajetórias o controle de temperatura e da adiabaticidade do sistema foram garantidos. Para determinar a multiplicidade que levasse a maior estabilidade do sistema GlcN\_Ca<sup>2+</sup>, foram calculadas as energias considerando as multiplicidades 1 e 3, com níveis de cálculos M062X/6-311++G\*\* e MP2/cc-pvdz, veja Tabela 9. Concluiu-se que a menor energia ocorre com multiplicidade 1, em ambos os níveis de teoria.

**Tabela 9** - Energia em kcal mol<sup>-1</sup> do sistema GlcN\_Ca<sup>2+</sup>, considerando carga +2 com multiplicidade 1 e 3.

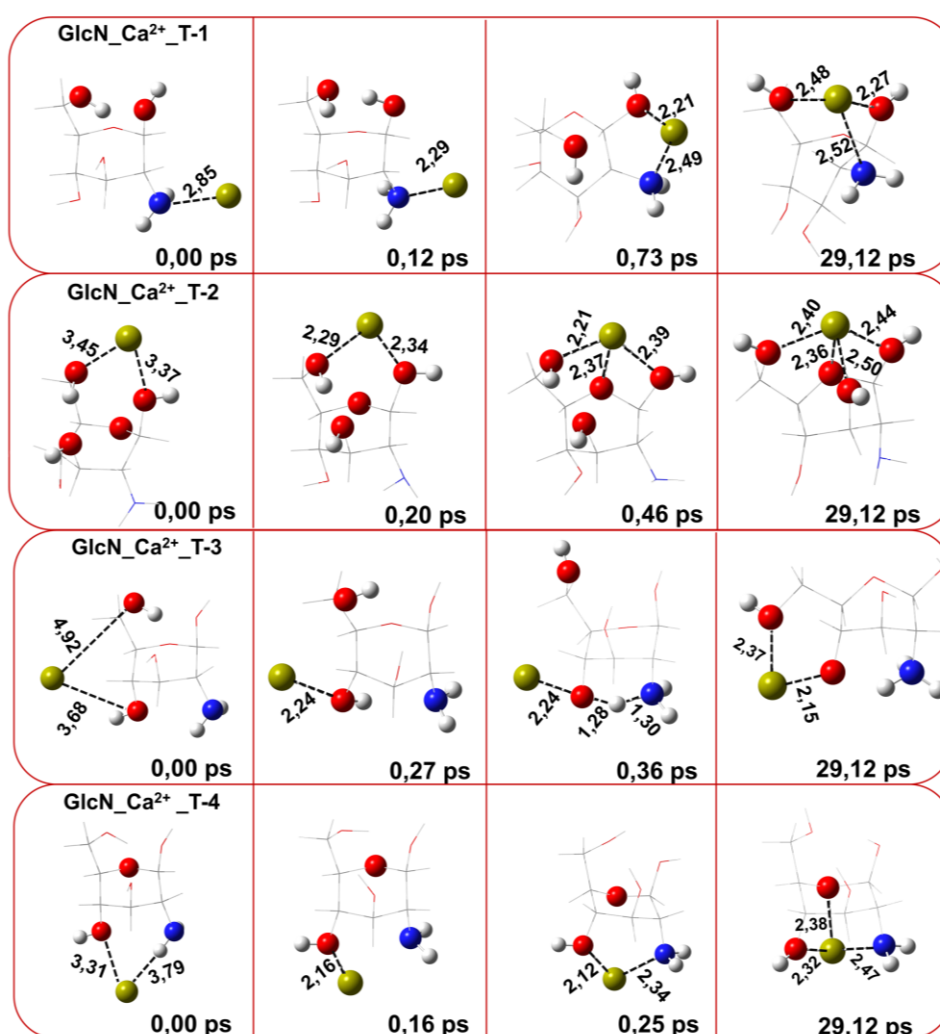
Multiplicidade	E(M062X/6-311++G**)	E(MP2/cc-pvdz)
1	-816.648,3	-815.119,8
3	-816.578,4	-815.037,2

A Figura 27 mostra a evolução temporal das quatro configurações ao longo das simulações de DMCP, e apresenta os valores da distância entre os átomos na interação. Sendo que na configuração final (29,12 ps), estão indicadas as distâncias médias entre o tempo de equilíbrio e o tempo final da simulação. A Figura 28 mostra a variação da distância do íon cálcio com os sítios da GlcN ao longo da simulação.

Na primeira trajetória (T-1) da complexação do íon cálcio com a GlcN, o íon foi posicionado inicialmente a 2,85 Å de N(12), a 4,50 Å de O(3) e a 6,75 Å de O(2) da molécula

de GlcN (Figura 27 e Figura 28). Logo no início da simulação (0,12 ps), o cálcio aproximou-se de N(12). Em torno de 0,73 ps coordenou com O(3) e em torno de 3,58 ps coordenou com O(2), estabelecendo o equilíbrio e formando um complexo tridentado (GlcN\_Ca<sup>2+</sup>\_T-1) com geometria piramidal. Os valores de distância média mostram que o cálcio aproximou-se mais do sítio O(3) do que dos demais (Figura 27)

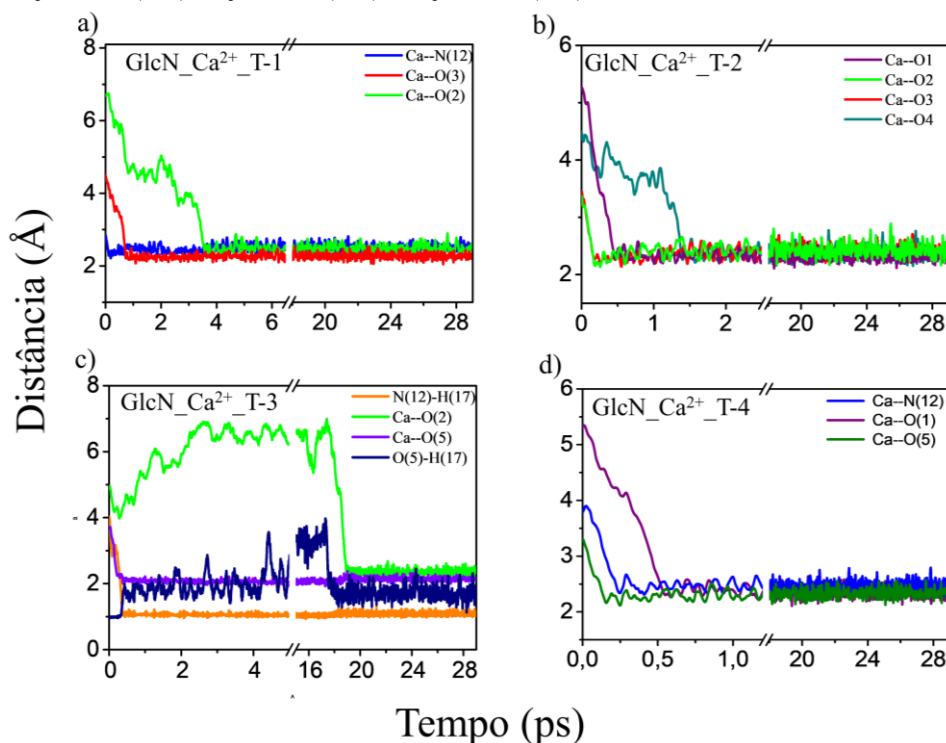
**Figura 27** - Evolução temporal da DMCP de GlcN\_Ca<sup>2+</sup>. Os parâmetros geométricos representam quatro diferentes configurações iniciais em quatro trajetórias diferentes: trajetória 1 (T-1), trajetória 2 (T-2), trajetória 3 (T-3) e trajetória 4 (T-4). Em 29,12 ps, a distância de ligação corresponde a distância média da interação entre o tempo inicial de formação do complexo (equilíbrio da complexação) e o tempo final da simulação.



Na segunda trajetória (T-2) de complexação do cálcio com a GlcN, o cálcio foi posicionado inicialmente a 5,27 Å de O(1), a 3,45 Å de O(2), 3,37 Å de O(3) e 4,49 Å de O(4) da molécula de GlcN (Figura 27 e Figura 28). Em 0,20 ps, o cálcio aproximou-se quase que simultaneamente de O(2) e O(3), em cerca de 0,46 ps coordenou com O(1) e em torno de 1,40 ps com O(4), formando um complexo tetradentado (GlcN\_Ca<sup>2+</sup>\_T-2) com geometria em

gangorra. A distância média do íon cálcio com cada sítio foi na faixa de 2,36 Å a 2,50 Å (Figura 27).

**Figura 28** - Evolução temporal das distâncias de interação do cálcio e os sítios da GlcN na trajetória 1 (T-1), trajetória 2 (T-2), trajetória 3 (T-3) e trajetória 4 (T-4).



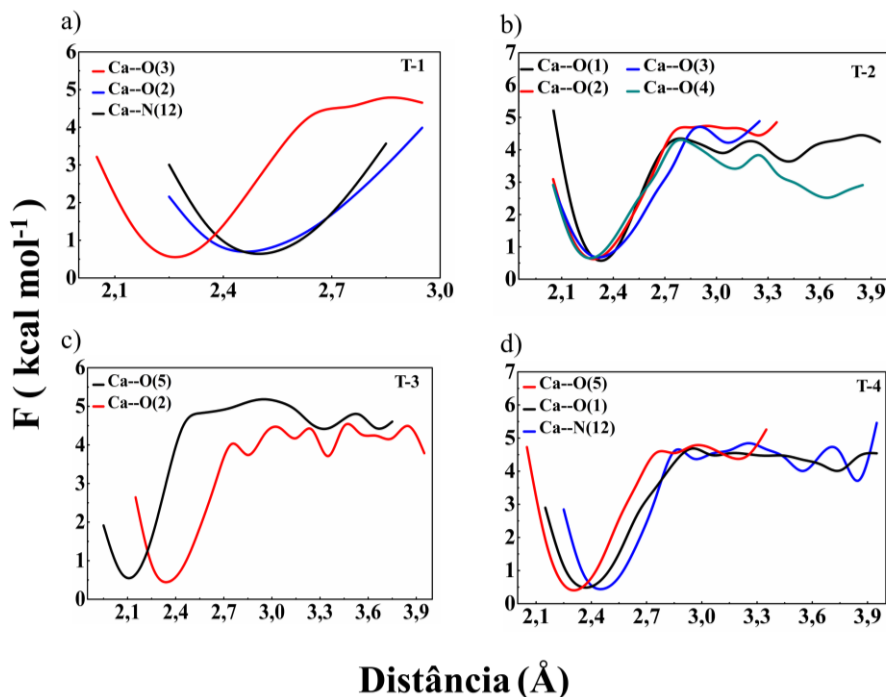
Na terceira trajetória (T-3) de complexação do cálcio com a GlcN, o cálcio foi posicionado, inicialmente, a 4,92 Å do O(2) e 3,68 Å do O(5) da GlcN (Figura 27 e Figura 28). Em aproximadamente 0,27 ps, o cálcio coordenou com O(5). Já em 0,36 ps ocorreu a transferência do hidrogênio do oxigênio, O(5), para o nitrogênio N(12) da molécula de GlcN, levando à protonação do grupo amino (Figura 27 e Figura 28). Estudos evidenciam que a protonação da GlcN na forma polimérica à torna ativa, uma vez que o grupo amino catiônico se liga com grupos aniônico de alguns microrganismos (MUCCI et al., 2017; RAVI KUMAR, 2000). Como o cálcio em dose adequada não é tóxico para o organismo, o complexo  $\text{GlcN\_Ca}^{2+}\text{-T-3}$  pode ser investigado também como possível agente antibacteriano. Em torno de 18,92 ps, o íon cálcio fez uma segunda coordenação, mantendo as distâncias da interação em equilíbrio. Foi observada a formação de uma espécie de anel pentagonal que se mantém até o final da simulação. A distância média dos dois sítios Ca--O(2) (2,37 Å) e Ca--O(5) (2,15 Å) indicou que houve uma boa aproximação do cálcio com os dois sítios da GlcN (Figura 27).

Na quarta trajetória (T-4) de complexação do cálcio com a GlcN, o cálcio foi posicionado inicialmente a 5,33 Å de O(1), a 3,31 Å de O(5) e 3,79 Å de N(12) (Figura 28). Logo no início da simulação (0,16 ps) o cálcio coordenou com O(5). Em torno de 0,25 ps, coordenou com N(12) e em torno de 0,55 ps coordenou com O(1), formando um complexo tridentado (GlcN\_Ca<sup>2+</sup>\_T-4) de geometria piramidal (Figura 27). As distâncias das interações formadas se mantêm em equilíbrio até o final da simulação. Observa-se pela distância média, que o íon cálcio se aproximou mais do sítio do O(5) da GlcN (2,32 Å) do que do sítio O(2) (2,47 Å). Portanto, em todas as trajetórias foram observadas as complexações entre a GlcN e o cálcio.

#### 4.4.1 Energia de Helmholtz e Energia de Complexação do Complexo GlcN\_Ca<sup>2+</sup>

Os gráficos da Figura 29 mostram a energia livre de Helmholtz da interação de GlcN e íon cálcio para as quatro trajetórias. Em geral, a energia mínima esteve próxima ao valor médio da distância entre os átomos envolvidos na interação. No complexo GlcN\_Ca<sup>2+</sup>\_T-1, a interação que apresentou energia livre mais estável foi a interação Ca--O(3) com energia da barreira estimada em  $\Delta F = -4,0 \text{ kcal mol}^{-1}$ . As interações Ca--O(2) e Ca--N(12) mostraram uma barreira energética com valor em torno de  $-3,0 \text{ kcal mol}^{-1}$ . No complexo GlcN\_Ca<sup>2+</sup>\_T-2, as energias das quatro interações foram semelhantes, de aproximadamente  $-4,0 \text{ kcal mol}^{-1}$ . No complexo GlcN\_Ca<sup>2+</sup>\_T-3, a interação Ca--O(5) se mostrou mais estável que a interação Ca--O(2), assim, as barreiras energéticas foram estimadas em  $-4,3 \text{ kcal mol}^{-1}$  e  $-3,6 \text{ kcal mol}^{-1}$ , respectivamente. Por fim, o complexo GlcN\_Ca<sup>2+</sup>\_T-4 apresentou barreiras energéticas de aproximadamente  $-4,0 \text{ kcal mol}^{-1}$  para as três interações. Portanto, pôde-se concluir que a formação dos 4 complexos é energeticamente favorável.

**Figura 29** - Energia de Helmholtz das interações entre GlcN e  $\text{Ca}^{2+}$  nas quatro trajetórias a) T-1, b) T-2, c) T-3 e d) T-4.



De 100 configurações não correlacionadas provenientes da DMCP, foram calculadas as energias de complexação para cada trajetória, usando M062XD/6-311++G(d,p) com correção de BSSE. Os resultados da energia de complexação média confirmaram a estabilidade dos complexos:  $-163,041 \text{ kcal mol}^{-1}$  para  $\text{GlcN\_Ca}^{2+}\text{-T-1}$ ,  $-190,081 \text{ kcal mol}^{-1}$  para  $\text{GlcN\_Ca}^{2+}\text{-T-2}$ ,  $-186,985 \text{ kcal mol}^{-1}$  para o  $\text{GlcN\_Ca}^{2+}\text{-T-3}$  e  $-162,801 \text{ kcal mol}^{-1}$  para  $\text{GlcN\_Ca}^{2+}\text{-T-4}$ . Portanto, a ordem de estabilidade encontrada foi:  $\text{GlcN\_Ca}^{2+}\text{-T-2} > \text{GlcN\_Ca}^{2+}\text{-T-3} > \text{GlcN\_Ca}^{2+}\text{-T-1} > \text{GlcN\_Ca}^{2+}\text{-T-4}$ .

#### 4.4.2 Análise Topológica dos Complexos $\text{GlcN\_Ca}^{2+}$

Considerando o intervalo entre o instante em que o sistema entrou em equilíbrio e o tempo final de simulação, foram selecionados para análise duas configurações não correlacionadas. Uma correspondente à configuração de menor distância da interação e o outra correspondente à configuração de maior distância da interação. Desta forma, foi possível obter a faixa em que a densidade e o Laplaciano variavam ao longo da simulação. Na Tabela 10, estão apresentadas as propriedades topológicas da densidade eletrônica no ponto crítico de cada interação, bem como a distância em que as configurações foram selecionadas.

Os resultados mostraram que para as maiores distâncias de cada interação, a densidade encontrada esteve entre o intervalo de 0,01 ua a 0,04 ua, todas com Laplaciano positivo. Os valores das densidades eletrônicas correspondentes a menores distâncias foram encontrados em uma escala variando de 0,048 ua a 0,095 ua e com todos os Laplacianos positivos. Por isso, para todos os complexos, durante toda a simulação, predominam o caráter da interação de camada fechada ( $\rho(\mathbf{r}) < 0,1$  e  $\nabla^2\rho(\mathbf{r}) > 0$ ).

A densidade eletrônica e Laplaciano da interação Ca--O(3), para o complexo GlcN\_Ca<sup>2+</sup>\_T-2, não foi calculada para a maior distância (2,891 Å) porque não havia nenhum ponto crítico entre estes átomos nesta posição.

**Tabela 10** - Distâncias (Å) e parâmetros topológicos da densidade de elétrons:  $\rho(\mathbf{r})$ ,  $G(\mathbf{r})$ ,  $V(\mathbf{r})$  e  $\nabla^2\rho(\mathbf{r})$ , em unidades atômicas (ua). Calculados no nível de teoria M06-2X/6-311G\*\*.

Interações	Distância	$\rho(\mathbf{r})$	$G(\mathbf{r})$	$V(\mathbf{r})$	$\nabla^2\rho(\mathbf{r})$	$ V(\mathbf{r}) /G(\mathbf{r})$
GlcN_Ca <sup>2+</sup> _T-1						
Ca--N(12)	2,27	0,05	0,06	-0,06	0,25	0,99
	2,86	0,02	0,01	-0,01	0,05	0,91
Ca--O(2)	2,24	0,05	0,06	-0,06	0,27	0,90
	2,90	0,01	0,01	-0,01	0,05	0,83
Ca--O(3)	2,01	0,08	0,12	-0,12	0,50	0,99
	2,55	0,02	0,02	-0,02	0,11	0,85
GlcN_Ca <sup>2+</sup> _T-2						
Ca--O(1)	2,10	0,06	0,11	-0,10	0,46	0,93
	2,65	0,02	0,02	-0,02	0,10	0,81
Ca--O(2)	2,15	0,05	0,09	-0,08	0,39	0,90
	2,76	0,01	0,01	-0,01	0,07	0,75
Ca--O(3)	2,16	0,05	0,08	-0,07	0,37	0,89
	2,89	-	-	-	-	-
Ca--O(4)	2,15	0,05	0,09	-0,08	0,38	0,90
	2,78	0,01	0,01	-0,01	0,07	0,76
GlcN_Ca <sup>2+</sup> _T-3						
Ca--O(2)	2,13	0,06	0,09	-0,08	0,38	0,94
	2,69	0,02	0,02	-0,01	0,08	0,85
Ca--O(5)	1,98	0,10	0,14	-0,14	0,53	1,04
	2,35	0,04	0,04	-0,04	0,19	0,96
GlcN_Ca <sup>2+</sup> _T-4						
Ca--O(1)	2,11	0,07	0,10	-0,09	0,39	0,97
	2,81	0,02	0,01	-0,01	0,06	0,91
Ca--O(5)	2,09	0,06	0,07	-0,07	0,31	0,94
	2,64	0,02	0,02	-0,02	0,09	0,86
Ca--N(12)	2,25	0,06	0,07	-0,07	0,26	1,01
	2,79	0,02	-0,01	-0,01	0,06	0,93

A fim de confirmar se as interações formadas tinham caráter predominantemente iônico, foi feita uma relação entre o valor do módulo da energia potencial e da energia cinética no ponto crítico:  $|V(\mathbf{r})|/G(\mathbf{r})$ . Astani e colaboradores (2017) fizeram análise

semelhante para as interações envolvendo cálcio metálico e molécula orgânica (ASTANI et al., 2017). Assim, neste trabalho, também foi utilizada esta razão para analisar a natureza das interações entre o íon cálcio e os sítios da GlcN. Na Tabela 10, os resultados mostram que estes valores estavam na faixa entre 0,752 e 1,043. Apenas duas interações: Ca--O(5) no GlcN\_Ca<sup>2+</sup>\_T-3 e N(12)--Ca no GlcN\_Ca<sup>2+</sup>\_T-4 apresentaram valor na faixa de  $1 < |V(\mathbf{r})|/G(\mathbf{r}) < 2$ . No entanto, estes valores foram muito próximos de 1, o que nos leva a acreditar que eles também possuem um caráter predominantemente iônico.

#### 4.4.3 Análise de NBO do complexo GlcN\_Ca<sup>2+</sup>

Com a finalidade de conhecer a estabilização das interações entre o íon cálcio e a GlcN, através da transferência de carga do doador para o receptor em cada interação, realizamos análise de NBO nos complexos em estudo. A análise de NBO foi realizada através do frame correspondente à menor energia de complexação. As energias de estabilização maiores do que 5 kcal mol<sup>-1</sup>, os orbitais doadores e os orbitais receptores estão dados na Tabela 11.

A análise de NBO descrita na Tabela 11 mostrou que a estabilização dos complexos resultou principalmente da transferência de pares de elétrons livres dos átomos O(1), O(2), O(3), O(4), O(5) e N(12), para os orbitais vazios do metal. A estabilização do complexo GlcN\_Ca<sup>2+</sup>\_T-1 ocorre principalmente devido à transferência de elétrons de pares livres de três sítios da GlcN: N(12),  $n_1N(12)$ ; O(2),  $n_1O(2)$  e O(3),  $n_1O(3)$ , para os orbitais vazios de Ca<sup>2+</sup>,  $n^*Ca$ . Sendo que a maior transferência de elétrons foi de 0,01531e de  $n_1N(12)$  para  $n_1^*Ca$ , o que corresponde a 15,31 kcal mol<sup>-1</sup> de energia de estabilização.

Os quatro sítios da GlcN: O(1), O(2), O(3) e O(4) contribuíram para a estabilização do complexo GlcN\_Ca<sup>2+</sup>\_T-2. Em todos os casos, os orbitais doadores foram os pares de elétrons livres dos átomos de oxigênio:  $n_1O(1)$ ,  $n_2O(1)$ ,  $n_2O(2)$ ,  $n_2O(3)$  e  $n_2O(4)$ , enquanto todos os orbitais receptores foram orbitais desocupados de Ca<sup>2+</sup>,  $n^*Ca$ . Para o complexo GlcN\_Ca<sup>2+</sup>\_T-3, a estabilização foi principalmente pela hiperconjugação dos pares de elétrons livres de O(2) e O(5) ( $n_1O(1)$ ,  $n_2O(1)$ ,  $n_1O(5)$ ,  $n_2O(5)$ ), para os orbitais vazios do íon cálcio,  $n^*Ca$ . No complexo GlcN\_Ca<sup>2+</sup>\_T-4, três sítios contribuíram predominantemente para sua estabilização: O(1), O(5) e N(12). A maior transferência de carga ocorreu a partir dos elétrons livres do N(12),  $n_1N(12)$  para os orbitais vazios do cálcio ( $n_1^*Ca$ ), com uma energia de estabilização de 15,79 kcal mol<sup>-1</sup>. Analisando os quatro

complexos fica evidente que os sítios da GlcN são doadores de elétrons e o íon de cálcio funciona como aceitador de elétrons. As doações de densidades de elétrons mais notáveis são observadas na transferência dos pares de elétrons livres do átomo de nitrogênio e os orbitais desocupados do íon cálcio no complexo  $\text{GlcN\_Ca}^{2+}\text{-T-4}$ . Porém, mesmo esta energia de estabilização considerada mais notável, não é tão significativa, o que reforça o carácter predominante eletrostático das interações  $\text{GlcN\_Ca}^{2+}$ .

**Tabela 11** - Os orbitais doadores e aceitadores de elétrons e  $E_{(2)}$  que representa a energia de interação de segunda ordem dos complexos:  $\text{GlcN\_Ca}^{2+}\text{-T-1}$ ,  $\text{GlcN\_Ca}^{2+}\text{-T-2}$ ,  $\text{GlcN\_Ca}^{2+}\text{-T-3}$  e  $\text{GlcN\_Ca}^{2+}\text{-T-4}$ . Calculados no nível de teoria M06-2X/6-31G\*\* e  $E(2)$  em  $\text{kcal mol}^{-1}$ .

Doador (i)	Receptor (j)	$E_{(2)}$
$\text{GlcN\_Ca}^{2+}\text{-T-1}$		
$n_1N(12)$	$n_1^*Ca$	15,31
$n_2O(2)$	$n_2^*Ca$	7,55
$n_2O(2)$	$n_3^*Ca$	5,88
$n_2O(3)$	$n_1^*Ca$	8,98
$n_2O(3)$	$n_2^*Ca$	5,20
$n_2O(3)$	$n_1^*Ca$	7,68
$\text{GlcN\_Ca}^{2+}\text{-T-2}$		
$n_2O(1)$	$n_1^*Ca$	10,01
$n_2O(2)$	$n_1^*Ca$	6,53
$n_2O(2)$	$n_3^*Ca$	5,48
$n_2O(3)$	$n_1^*Ca$	7,38
$n_2O(3)$	$n_2^*Ca$	6,62
$n_2O(4)$	$n_1^*Ca$	9,04
$n_2O(4)$	$n_2^*Ca$	6,80
$\text{GlcN\_Ca}^{2+}\text{-T-3}$		
$n_2O(2)$	$n_2^*Ca$	5,26
$n_1O(5)$	$n_3^*Ca$	6,05
$\text{GlcN\_Ca}^{2+}\text{-T-4}$		
$n_1N(12)$	$n_1^*Ca$	15,79
$n_1O(1)$	$n_2^*Ca$	8,39
$n_1O(1)$	$n_1^*Ca$	6,51
$n_2O(5)$	$n_1^*Ca$	6,10
$n_2O(5)$	$n_3^*Ca$	9,70

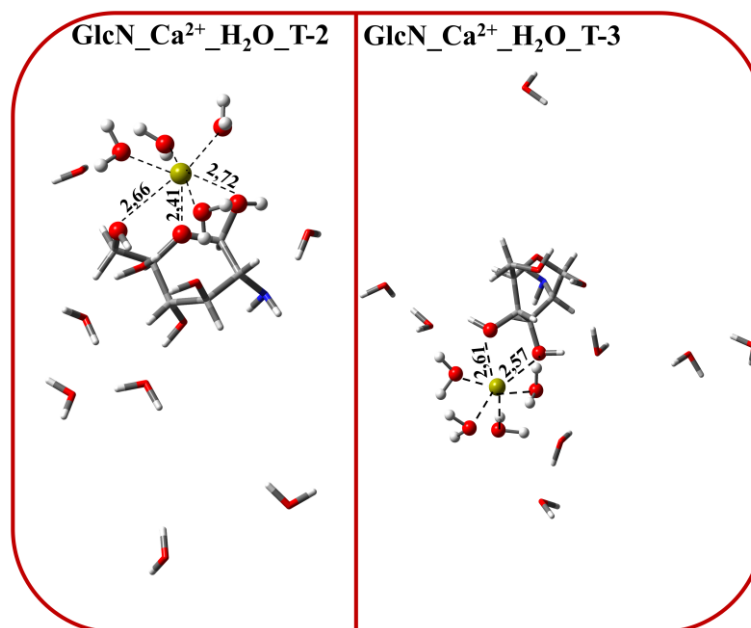
#### 4.5 Micro solvatação da complexação GlcN\_Ca<sup>2+</sup>

Com a finalidade de investigar a influência das moléculas de água na interação dos íons cálcio e GlcN, realizou-se a dinâmica molecular da microssolvatação partindo das configurações iniciais que formaram os complexos mais estáveis na fase gasosa (GlcN\_Ca<sup>2+</sup>\_T-2 e GlcN\_Ca<sup>2+</sup>\_T-3). A Figura 30 mostra as estruturas obtidas pela simulação de micro solvatação. O complexo formado GlcN\_Ca<sup>2+</sup>\_H<sub>2</sub>O\_T-2 a partir da configuração inicial GlcN\_Ca<sup>2+</sup>\_T-2 e 12 moléculas de água, apresentou quatro interações com moléculas de água e três com grupos hidroxilas do GlcN, portanto, sete coordenações com íon cálcio. A complexação iniciou-se quando o íon cálcio se aproximou de O(2) e O(3) quase simultaneamente (0,01 ps). Pouco depois, três moléculas de água se aproximaram, cerca de 0,145 ps, 0,290 ps e 0,435 ps respectivamente. Somente depois de 4 ps, o íon cálcio coordenou com o sítio O1 da GlcN e a quarta molécula de água. As distâncias médias das interações variaram entre 2,41 Å e 2,72 Å.

Na solvatação aquosa da GlcN, apresentada anteriormente, foi observado que as moléculas de água formaram interações em vários sítios da GlcN. Na complexação da GlcN com o íon cálcio na presença de água, foi encontrado um comportamento semelhante. Por exemplo, os grupos hidroxila O(3)-H(21) e amino (NH<sub>2</sub>), interagiram com uma molécula de água durante a simulação.

A segunda trajetória de complexação em ambiente micro solvatado partiu da configuração inicial, GlcN\_Ca<sup>2+</sup>\_T-3 e 12 moléculas de água. A formação do complexo começou em 0,17 ps, quando O(5) e uma molécula de água se aproximaram do íon cálcio, formando duas interações em direção oposta. Um complexo tridentato foi formado pela interação da segunda molécula de água cerca de 0,21 ps. A terceira molécula de água foi complexada cerca de 2,05 ps, e apenas cerca de 5,04 ps o sítio O(4) da GlcN, e a quarta molécula de água interagiram com íon cálcio, em direções opostas, formando um complexo hexacoordenado GlcN\_Ca<sup>2+</sup>\_H<sub>2</sub>O\_T-3 (Figura 30), que permaneceu até o final da simulação. As distâncias médias das interações variaram entre 2,55 Å e 2,61 Å. Vale ressaltar que a transferência intramolecular de hidrogênio entre o grupo hidroxila e o grupo amino de GlcN, que ocorreu no ambiente com a ausência do solvente, não foi observada no ambiente de micro solvatação, uma vez que as moléculas de água modificaram os parâmetros geométricos da GlcN, impedindo a aproximação do hidrogênio hidroxílico e o grupo amino.

**Figura 30** - Parâmetros geométricos representados pela simulação de duas micro solvatações diferentes (M-1 e M-2). No esquema estão representadas as distâncias médias (unidade em Å) de interação entre o tempo inicial de formação do complexo e o tempo final da simulação.



A energia de interação GlcN e  $\text{Ca}^{2+}$  nos complexos  $\text{GlcN\_Ca}^{2+}\text{-H}_2\text{O\_T-2}$  e  $\text{GlcN\_Ca}^{2+}\text{-H}_2\text{O\_T-3}$  foram, respectivamente:  $-171.73$  e  $-102,59 \text{ kcal mol}^{-1}$ . Aumentando em  $18,35$   $40 \text{ kcal mol}^{-1}$  e  $84,40 \text{ kcal mol}^{-1}$ , quando comparadas com as energias de complexação formadas no ambiente em fase gasosa com as mesmas configurações iniciais. Isto ocorre porque as moléculas de água também interagem com o íon cálcio. Contudo, as energias encontradas no ambiente aquoso mostram que os complexos se mantêm estáveis.

#### 4.5.1 Análise Topológica dos Complexos $\text{GlcN\_Ca}^{2+}\text{-H}_2\text{O}$

As interações de ambos os complexos formados no ambiente de micro solvatação indicaram a presença do ponto crítico (Tabela 12), exceto para maiores distâncias do  $\text{Ca--O(2)}$  e  $\text{Ca--O(3)}$  do complexo  $\text{GlcN\_Ca}^{2+}\text{-H}_2\text{O\_T-2}$  e  $\text{Ca--O1}$  e  $\text{Ca--w2}$  do complexo  $\text{GlcN\_Ca}^{2+}\text{-H}_2\text{O\_T-3}$ . A faixa de densidade eletrônica variou entre  $0,01 \text{ ua}$  a  $0,03 \text{ ua}$  com Laplacianos positivos para distâncias maiores. Para distâncias mais curtas, foram observadas uma faixa entre  $0,020 \text{ ua}$  a  $0,06 \text{ ua}$  com laplacianos também positivos, revelando o caráter da interação de camada fechada para todas as interações ( $\rho(\mathbf{r}) < 0,1$  e  $\nabla^2\rho(\mathbf{r}) > 0$ ). Os valores mostraram que  $\frac{|V(\mathbf{r})|}{G}(\mathbf{r}) < 1$  em todos os casos, confirmando a natureza iônica dessas interações. Além disso, destaca-se que, devido à menor densidade eletrônica observada nessas

interações em comparação com os complexos formados na ausência de água, estima-se que o complexo envolvendo moléculas de água tenha um caráter iônico mais forte.

**Tabela 12** - Distância (Å) e parâmetros topológicos da densidade eletrônica calculada com nível de teoria M06-2X/6-31G\*\*. Todos os parâmetros:  $\rho(\mathbf{r})$ ,  $G(\mathbf{r})$ ,  $V(\mathbf{r})$  e  $\nabla^2\rho(\mathbf{r})$  estão em unidades atômicas (ua). O índice  $w$  representa átomo de moléculas de água.

Interação	Distância	$\rho(\mathbf{r})$	$G(\mathbf{r})$	$V(\mathbf{r})$	$\nabla^2\rho(\mathbf{r})$	$ V(\mathbf{r}) /G(\mathbf{r})$
GlcN_Ca <sup>2+</sup> _H <sub>2</sub> O_T-2						
Ca <sup>2+</sup> --O(1)	2,14	0,06	0,08	-0,08	0,36	0,93
	2,74	0,01	0,01	-0,01	0,07	0,86
Ca <sup>2+</sup> --O(2)	2,19	0,05	0,07	-0,07	0,32	0,92
	3,58	-	-	-	-	-
Ca <sup>2+</sup> --O(3)	2,26	0,04	0,06	-0,05	0,26	0,88
	3,59	-	-	-	-	-
Ca <sup>2+</sup> --O(w1)	2,19	0,02	0,02	-0,02	0,10	0,85
	2,92	0,01	0,01	-0,01	0,04	0,88
Ca <sup>2+</sup> --O(w2)	2,13	0,02	0,02	-0,02	0,11	0,83
	2,92	0,01	0,01	-0,01	0,04	0,89
Ca <sup>2+</sup> --O(w3)	2,16	0,03	0,04	-0,03	0,18	0,85
	2,94	0,01	0,01	-0,01	0,04	0,88
Ca <sup>2+</sup> --O(w4)	2,17	0,05	0,08	-0,07	0,34	0,91
	3,17	0,01	0,01	0,00	0,02	0,80
GlcN_Ca <sup>2+</sup> _H <sub>2</sub> O_T-3						
Ca <sup>2+</sup> --O(4)	2,30	0,04	0,05	-0,05	0,23	0,91
	3,04	0,01	0,01	-0,01	0,03	0,86
Ca <sup>2+</sup> --O(5)	2,26	0,05	0,06	-0,05	0,26	0,90
	3,26	0,01	0,00	0,00	0,02	0,75
Ca <sup>2+</sup> --O(w2)	2,24	0,045	0,060	-0,05	0,03	0,88
	3,06	-	-	-	-	-
Ca <sup>2+</sup> --O(w2)	2,28	0,05	0,06	-0,05	0,25	0,89
	2,99	0,03	0,01	0,00	0,00	0,80
Ca <sup>2+</sup> --O(w3)	2,26	0,04	0,06	-0,05	0,26	0,90
	3,19	-	-	-	-	-
Ca <sup>2+</sup> --O(w4)	2,27	0,04	0,06	-0,05	0,25	0,89
	3,16	0,01	0,01	0,00	0,03	0,80

#### 4.5.2 Análise de NBO do complexo GlcN\_Ca<sup>2+</sup>\_H<sub>2</sub>O

A análise de NBO para os complexos de GlcN e Ca<sup>2+</sup> em meio aquoso indica que a formação dos complexos em ambiente solvatado são regidos por interações de pares de elétrons isolados dos orbitais de átomos de oxigênio ( $nO$ ) e nitrogênio ( $nN$ ) da GlcN, e par

isolado de elétrons de orbitais de átomos de oxigênio de moléculas de água,  $nO(w)$ , para os  $n^*$  orbitais vazios do cálcio (Tabela 13). A maior energia de hiperconjugação observada foi no complexo  $\text{GlcN\_Ca}^{2+}\text{-H}_2\text{O\_T-2}$  envolvendo os seguintes orbitais doadores e receptores:  $n_2O(w3) \rightarrow n_3^*(\text{Ca})$ , com valor de  $17,02 \text{ kcal mol}^{-1}$  (Tabela 13).

**Tabela 13** - Energias de interação de segunda ordem mais importantes ( $> 7 \text{ kcal mol}^{-1}$ ),  $E^{(2)}$  ( $\text{kcal mol}^{-1}$ ), entre orbitais doadores e orbitais aceitadores para cada complexo entre GlcN e íon cálcio no ambiente de micro solvatação.

Doador ( <i>i</i> )	Aceptor ( <i>j</i> )	$E_{(2)}$ ( $\text{kcal mol}^{-1}$ )
<b>GlcN_Ca<sup>2+</sup>_H<sub>2</sub>O_T-2</b>		
$n_2O(2)$	$n_1^*Ca$	15,17
$n_2O(2)$	$n_1^*Ca$	8,87
$n_2O(2)$	$n_2^*Ca$	8,19
$n_2O(3)$	$n_1^*Ca$	12,31
$n_2O(3)$	$n_3^*Ca$	10,23
$n_2O(w1)$	$n_1^*Ca$	14,53
$n_2O(w1)$	$n_2^*Ca$	11,13
$n_2O(w2)$	$n_2^*Ca$	11,19
$n_2O(w2)$	$n_1^*Ca$	16,43
$n_2O(w3)$	$n_3^*Ca$	17,02
$n_2O(w3)$	$n_4^*Ca$	7,18
$n_2O(w4)$	$n_4^*Ca$	11,52
$n_2O(w4)$	$n_4^*Ca$	12,78
<b>GlcN_Ca<sup>2+</sup>_H<sub>2</sub>O_T-3</b>		
$n_2O(4)$	$n_1^*Ca$	7,72
$n_2O(4)$	$n_2^*Ca$	8,17
$n_2O(4)$	$n_4^*Ca$	7,12
$n_2O(5)$	$n_2^*Ca$	10,35
$n_2O(w1)$	$n_1^*Ca$	13,75
$n_2O(w1)$	$n_4^*Ca$	7,91
$n_2O(w2)$	$n_2^*Ca$	11,68
$n_2O(w3)$	$n_1^*Ca$	11,54
$n_2O(w3)$	$n_3^*Ca$	10,66
$n_2O(w4)$	$n_3^*Ca$	16,18

Os resultados indicam que os íons cálcio complexam com a GlcN na fase gasosa e em ambiente solvatado. As interações são predominantemente iônicas. A estabilização das interações ocorre com os elétrons livres dos átomos de oxigênio e nitrogênio sendo os doadores, e os orbitais livres do íon cálcio sendo receptores. O entendimento microscópico aqui apresentado é importante para possíveis aplicações farmacológicas deste complexo.

#### 4.6 Complexação da GlcN com Cobalto

A complexação entre GlcN e o íon cobalto II na fase gasosa foi simulada utilizando a DMCP. As simulações foram realizadas partindo de quatro configurações iniciais diferentes, resultando assim, em quatro trajetórias (T-1, T-2, T-3 e T-4). Em todas as trajetórias, o controle da temperatura e da adiabaticidade do sistema foram mantidas durante todo o tempo de simulação. Na Tabela 14, estão os valores de energia do sistema GlcN e  $\text{Co}^{2+}$ , considerando a carga +2 e variando os valores de multiplicidade em 2 e 4. As energias foram calculadas com níveis de cálculo M062X/6-311++G\*\* e MP2/cc-pvdz. Percebe-se que a menor energia ocorre com multiplicidade 4, resultado que condiz com estudos experimentais e teóricos (SPEZIA et al., 2006).

**Tabela 14** - Energia do sistema GlcN\_ $\text{Co}^{2+}$  considerando multiplicidade 2 e 4, nos níveis M062X/6-311++G(d,p) e MP2/cc-pvdz. Energia dada em kcal mol<sup>-1</sup>.

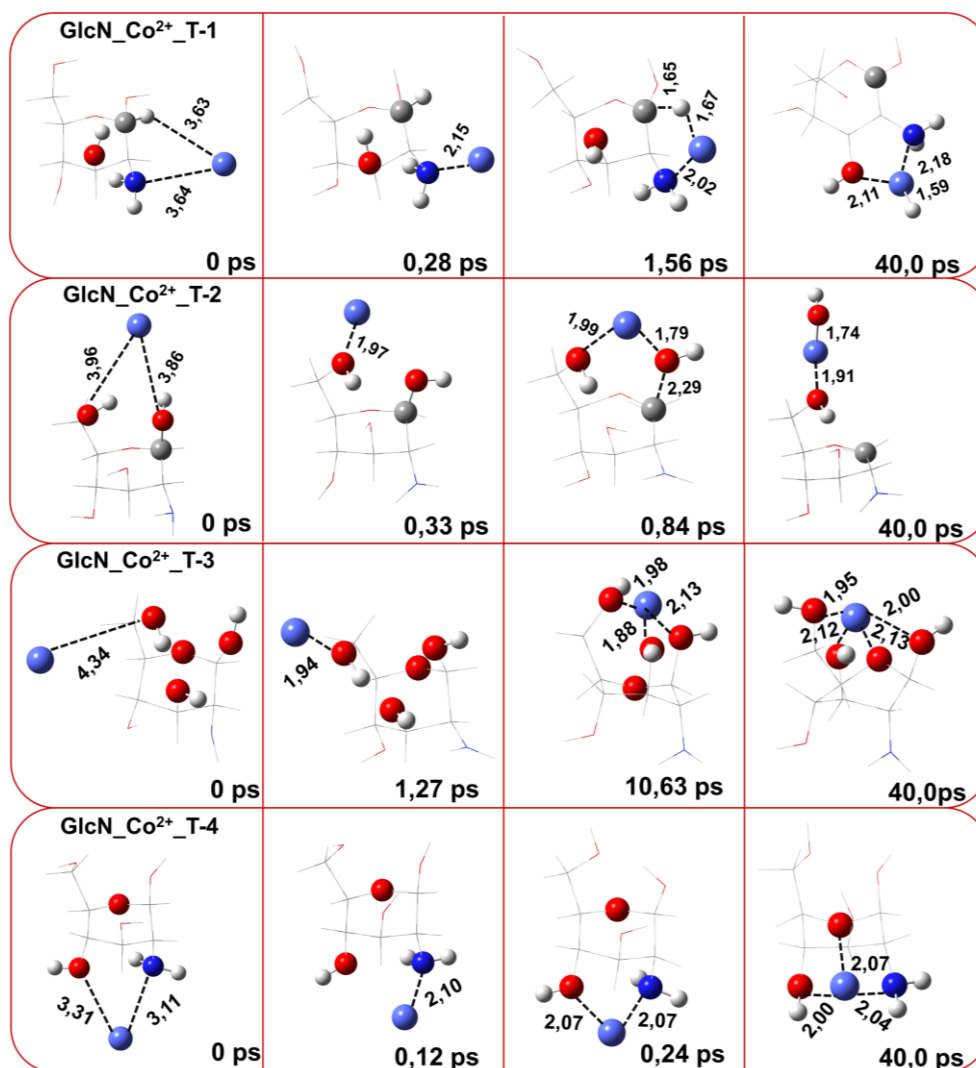
Multiplicidade	E(M062X/6-311++G(d,p))	E(MP2/cc-pvdz)
2	-1.281.482,0	-1.284.542,3
4	-1.285.887,2	-1.284.602,7

A Figura 31 apresenta a variação da distância do íon cobalto com os sítios da GlcN ao longo dos 40 ps de simulação das 4 trajetórias. Na configuração final, os comprimentos das interações indicam as distâncias médias calculadas entre o equilíbrio e o tempo final da simulação. A Figura 32 mostra ainda, evolução temporal de quatro configurações ao longo de cada trajetória.

Na primeira trajetória (T-1), o cobalto foi posicionado, inicialmente, a 3,62 Å do grupo amino e a 6,47 Å de O(4) da GlcN, conforme a Figura 31. Os resultados mostraram que no início da simulação, em torno de 0,28 ps o cobalto complexou com o nitrogênio. Em aproximadamente 1,56 ps ocorreu a transferência do hidrogênio H(15) ligado ao carbono C(6), para o cobalto. Após cerca de 25 ps de simulação observou-se a coordenação com O(4), formando a interação, N(12) -- CoH – O(4), como mostra a Figura 31, resultando na formação de um anel pentagonal. Geometria também observada nos cálculos estáticos da complexação da GlcN e os íons:  $\text{Pb}^+$  (JEREMIĆ et al., 2018) e  $\text{Pb}^{2+}$  (HASSAN; MURALEEDHARAN; ABDUL MUJEEB, 2015; JEREMIĆ et al., 2018),  $\text{Hg}^+$  (JEREMIĆ et al., 2018), e  $\text{Hg}^{2+}$  (HASSAN et al., 2017; JEREMIĆ et al., 2018). O complexo GlcN\_ $\text{Co}^{2+}$ \_T-1 permaneceu em equilíbrio até o final da simulação (40,0 ps). A distância média entre o Co e o H(15)

capturado foi de 1,59 Å, e entre as interações Co--N(12) e Co--O(4) foram de 2,18 Å e 2,11 Å, respectivamente.

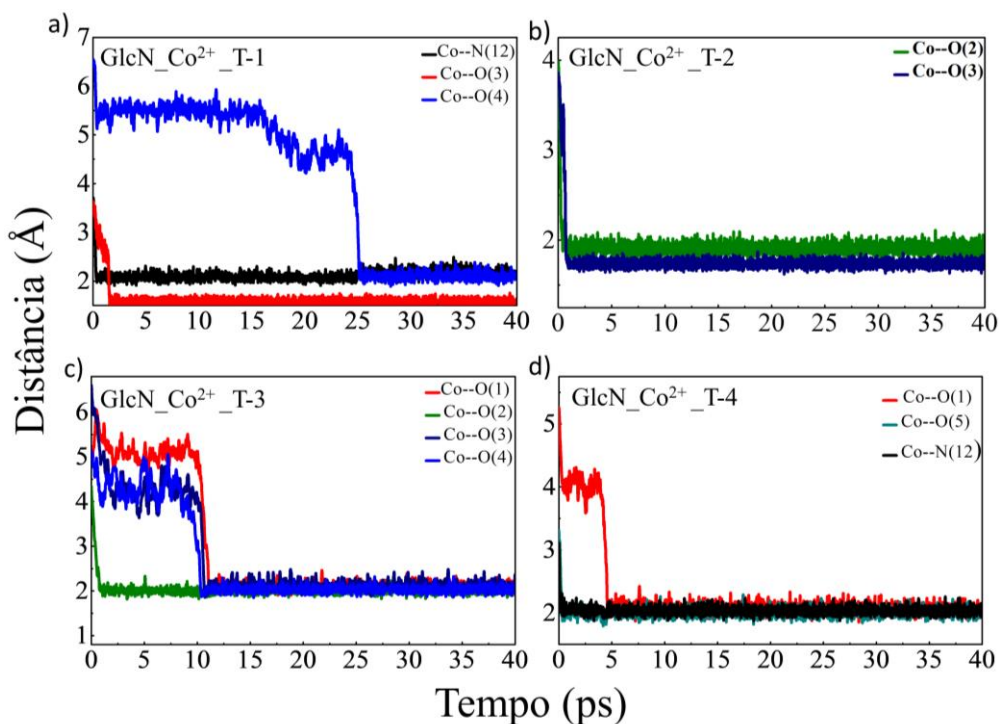
**Figura 31** - Evolução temporal da DMCP de GlcN\_Co<sup>2+</sup>. Os parâmetros geométricos representam quatro diferentes configurações iniciais em quatro trajetórias diferentes: trajetória 1 (T-1), trajetória 2 (T-2), trajetória 3 (T-3) e trajetória 4 (T-4). Em 40 ps a distância de ligação corresponde a distância média da interação entre o tempo inicial de formação do complexo (equilíbrio da complexação) e o tempo final da simulação.



Na segunda trajetória, inicialmente o cobalto foi colocado na posição indicada pela Figura 31 e Figura 32b, a 3,96 Å de O(2) e 3,86 Å de O(3). Os resultados mostraram que o íon cobalto II coordenou com O(2) em torno de 0,33 ps e com O(3) em torno de 0,84 ps, a seguir a hidroxila O(3)-H(21) se desliga de C(6) e se liga no íon cobalto II. Assim, o complexo GlcN\_Co<sup>2+</sup>\_T-2 entra em equilíbrio e o cobalto permanece ligado à hidroxila, O(3)-H(21) e em uma coordenação monodentada com O(2) até o final da simulação, como

mostra a Figura 32. A distância média entre o Co--O(2) e Co--O(3) foi de 1,91 Å e 1,74 Å, respectivamente.

**Figura 32** - Evolução temporal das distâncias de interação do cobalto e os sítios da GlcN na trajetória 1 (T-1), trajetória 2 (T-2), trajetória 3 (T-3) e trajetória 4 (T-4).



Na terceira trajetória de complexação do cobalto com a GlcN, o cobalto iniciou a trajetória a 5,16 Å de O(4) e 4,34 Å de O(2) (Figura 31 e Figura 32c). Em aproximadamente 1,27 ps do início da simulação o cobalto aproximou-se de O(2). O íon cobalto II foi rodeando a molécula de GlcN no sentido horário e em torno de 10,28 ps o íon cobalto II aproximou de O(4). Em torno de 10,63 ps aproximou-se de O(3) e em cerca de 11,04 ps de O(1) (Figura 31 e Figura 32c), entrando assim, em equilíbrio. O complexo  $\text{GlcN\_Co}^{2+}\text{-T-3}$  permaneceu tetradentado, em geometria em forma de gangorra até o final da simulação (40,0 ps). As distâncias médias encontradas entre cobalto e oxigênio variaram de 1,95 Å a 2,13 Å, o que indicou uma boa aproximação do cobalto com os quatro sítios do oxigênio.

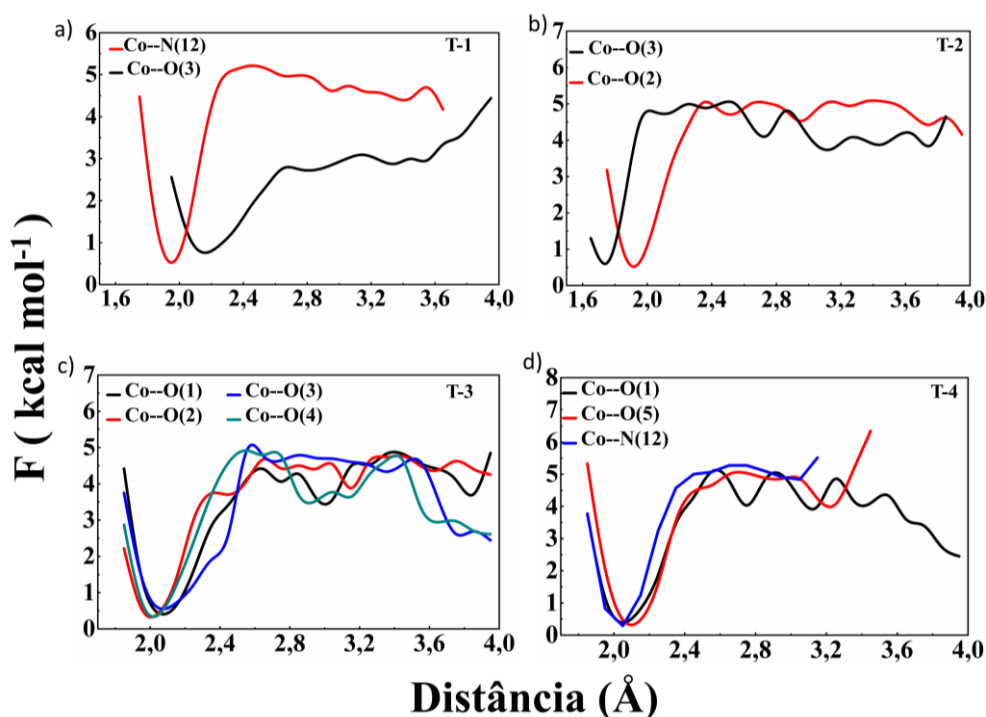
A quarta trajetória de complexação do íon cobalto II com a GlcN inicia com o cobalto a 3,11 Å de N(12), 3,31 Å de O(5) e a 5,26 Å de O(1) (Figura 32d). Já no início da simulação, o íon cobalto II faz uma coordenação com o N(12) e o O(5) a 0,12 ps e 0,24 ps, respectivamente. A coordenação bidentada permanece por aproximadamente 4,56 ps onde forma uma terceira coordenação com o O(1), formando o complexo  $\text{GlcN\_Co}^{2+}\text{-T-4}$ , na

forma tridentada e geometria piramidal. Mantém-se em equilíbrio até o final da simulação (Figura 31). As distâncias médias entre o íon cobalto II e os sítios da GlcN foram bem semelhantes, sendo 2,07 Å para Co--O(1), 2,00 Å para Co--O(5), e 2,04 Å para Co--N(12).

#### 4.6.1 Energia de Helmholtz e Energia de Complexação de GlcN\_Co<sup>2+</sup>

Os gráficos da Figura 33 mostram a energia livre de Helmholtz para as interações das quatro trajetórias da complexação GlcN e o íon cobalto II. Em geral, a energia mínima deu próximo ao valor encontrado para distância média entre os átomos envolvidos na interação.

**Figura 33** - Energia livre de Helmholtz para as interações das quatro trajetórias (T-1, T-2, T-3 e T-4) de GlcN e o íon cobalto II.



No complexo GlcN\_Co<sup>2+</sup>\_T-1, ambas interações Ca--O(4) e Ca--O(3) mostraram-se estáveis com barreiras energéticas estimadas em -3,85 kcal mol<sup>-1</sup> e -4,54 kcal mol<sup>-1</sup>. No complexo GlcN\_Co<sup>2+</sup>\_T-2, a interação Co--O(2) foi de -4,56 kcal mol<sup>-1</sup> e Co--O(3) -4,16 kcal mol<sup>-1</sup>. Portanto, as duas são estáveis. O complexo GlcN\_Co<sup>2+</sup>\_T-3 possui quatro interações entre o cobalto e os oxigênios da GlcN. Todas essas interações se mostraram estáveis, com barreira energética na faixa de -4,03 kcal mol<sup>-1</sup> a -4,62 kcal mol<sup>-1</sup>. Finalmente,

o complexo GlcN\_Co<sup>2+</sup>\_T-4, em que as três interações apresentaram estabilidades semelhantes, com valores de barreira energética de aproximadamente -4,5 kcal mol<sup>-1</sup>. Portanto, os quatro complexos se mostraram energeticamente favoráveis.

#### 4.6.2 Análise Topológica dos Complexos GlcN\_Co<sup>2+</sup>

A Tabela 15 mostra os valores das propriedades topológicas de densidade no ponto crítico para a maior e a menor distância de cada interação entre GlcN e Co<sup>2+</sup>. Os resultados mostraram que para as maiores distâncias de cada interação, a densidade eletrônica encontrada foi na faixa entre 0,03 ua a 0,06 ua e com todas os Laplacianos positivos. Para os valores da densidade do elétron correspondentes às menores distâncias, foi encontrada uma escala de 0,09 ua a 0,22 ua e todos os Laplacianos positivos. Portanto, nas maiores distâncias predominam as interações de natureza iônica ( $\rho(\mathbf{r}) < 0,1$  e  $\nabla^2\rho(\mathbf{r}) > 0$ ), e nas menores distâncias predominam as interações de natureza parcialmente covalentes ( $0,1 < \rho(\mathbf{r}) < 0,2$  e  $\nabla^2\rho(\mathbf{r}) > 0$ ). Não foram calculadas a densidade eletrônica e o Laplaciano da interação Co--O(1) para o complexo GlcN\_Co<sup>2+</sup>\_T-3, para a maior distância (2,52 Å), porque não havia nenhum ponto crítico entre estes átomos nesta posição.

A fim de confirmar a natureza das interações, também foi feita uma relação entre o valor do módulo da energia potencial e da energia cinética no ponto crítico:  $|V(r)|/G(r)$ . A Tabela 15 mostra que os valores encontrados estão na faixa de 1,01 a 1,31, isto é, apresentaram valores no intervalo de  $1 < |V(r)|/G(r) < 2$ . Portanto, confirma que as interações entre cobalto e a GlcN possuem natureza parcialmente covalente.

**Tabela 15** - Distâncias (Å) e parâmetros topológicos da densidade de elétrons calculados no nível de teoria M062X/6-311G\*\* para GlcN\_Co<sup>2+</sup>. Todos os parâmetros  $\rho(r)$ ,  $G(r)$ ,  $V(r)$  e  $\nabla^2\rho(r)$  estão em unidades atômicas (ua).

Interação	d (Å)	$\rho(r)$	$V(r)$	$G(r)$	$\nabla^2\rho(r)$	$ V(r) /G(r)$
<b>GlcN_Co<sup>2+</sup>_T-1</b>						
Co--N(12)	1,96	0,09	-0,16	0,14	0,49	1,13
	2,49	0,03	-0,03	0,03	0,10	1,12
Co--O(4)	1,89	0,09	-0,18	0,17	0,66	1,04
	2,39	0,03	-0,04	0,03	0,13	1,05
<b>GlcN_Co<sup>2+</sup>_T-2</b>						
Co-O(2)	1,75	0,14	-0,30	0,26	0,91	1,14
	2,11	0,06	-0,08	0,08	0,30	1,01
Co-O(3)	1,62	0,22	-0,52	0,40	1,10	1,31
	1,87	0,11	-0,19	0,17	0,58	1,13
<b>GlcN_Co<sup>2+</sup>_T-3</b>						
Co--O(1)	1,88	0,10	-0,20	0,18	0,67	1,07
	2,52	-	-	-	-	-
Co--O(2)	1,82	0,11	-0,23	0,21	0,78	1,08
	2,24	0,0	-0,05	0,05	0,20	1,00
Co--O(3)	1,88	0,10	-0,18	0,17	0,65	1,06
	2,48	0,03	-0,03	0,026	0,09	1,08
Co--O(4)	1,85	0,11	-0,21	0,20	0,73	-
	2,38	0,03	-0,04	0,03	0,13	1,08
<b>GlcN_Co<sup>2+</sup>_T-4</b>						
Co-O(1)	1,85	0,11	-0,22	0,20	0,71	1,10
	2,42	0,03	-0,03	0,03	0,11	1,12
Co-O(5)	1,82	0,12	-0,24	0,22	0,79	1,09
	2,29	0,04	-0,05	0,04	0,18	1,01
Co-N(12)	1,87	0,12	-0,21	0,18	0,57	1,19
	2,25	0,05	-0,06	0,05	0,19	1,11

#### 4.7 Complexação de Co<sup>2+</sup> e GlcN em ambiente de solvatação aquosa

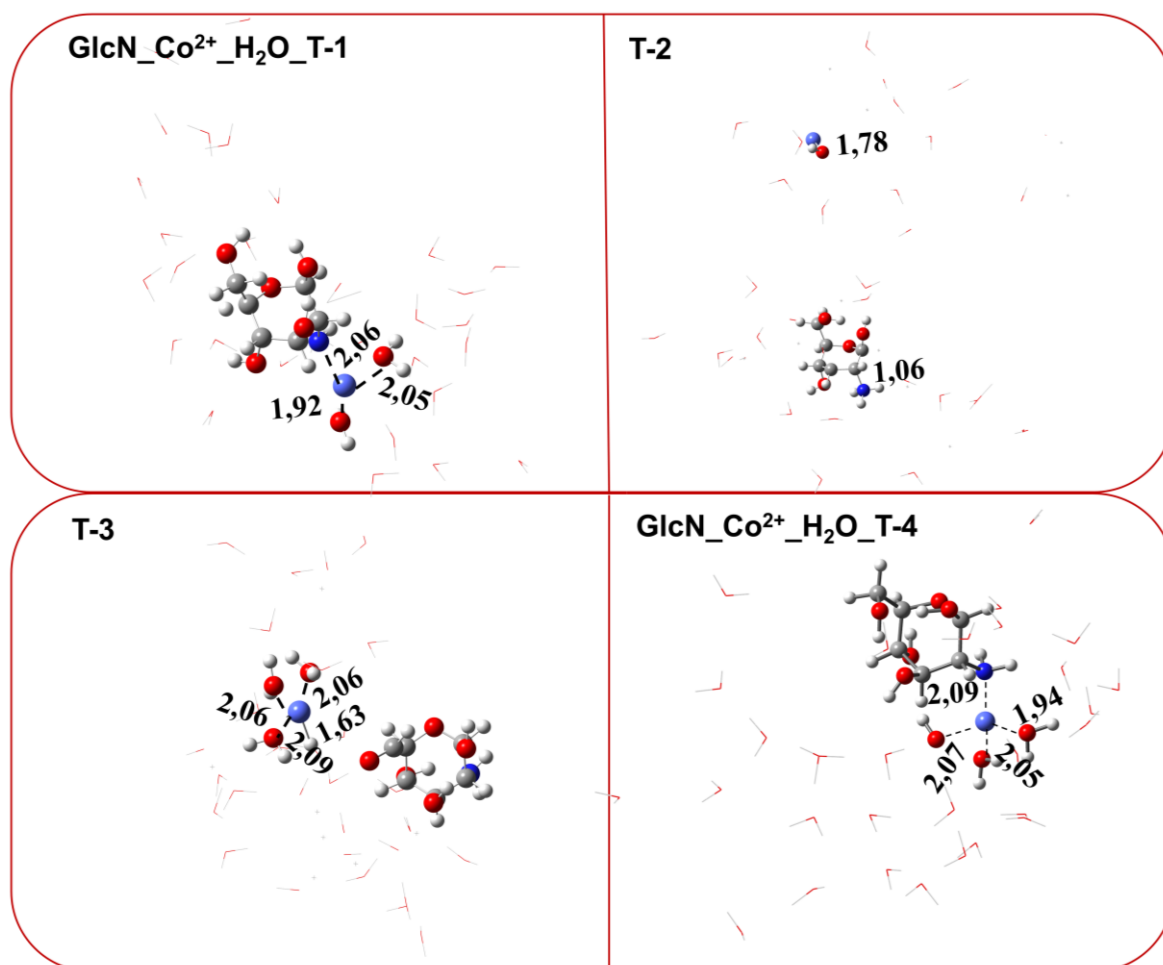
Na Figura 34, estão representados os complexos formados entre GlcN e o íon cobalto II na presença de 32 moléculas de água. Estão representadas ainda, as distâncias médias das interações e das ligações formadas. As distâncias médias foram calculadas entre o

instante em que o sistema entra em equilíbrio e o final da simulação. Já, na Figura 35, está representada a evolução das distâncias da interação com o tempo de simulação.

A trajetória 1 da complexação de GlcN e íon cobalto II em ambiente solvatado, iniciou-se com o cobalto a 3,79 Å do N(12) da GlcN (Figura 34 e Figura 35a). O íon cobalto II foi se afastando da molécula de GlcN até uma distância de aproximadamente 4,43 Å, a seguir tornou a se aproximar da molécula. Em aproximadamente 0,31 ps o íon cobalto se aproxima do átomo de oxigênio de uma molécula de água e cerca de 0,72 ps aproxima da segunda molécula de água, interagindo com ambas. Em cerca de 0,82 ps aproxima-se de N(12). Estas três interações se prolongam até o final da simulação (Figura 34 e Figura 35a), formando o complexo GlcN\_Co<sup>2+</sup>\_H<sub>2</sub>O\_T-1. O íon cobalto II ficou em média 2,06 Å do nitrogênio da molécula de GlcN (N12).

A trajetória 2 da complexação GlcN\_Co<sup>2+</sup> e moléculas de água iniciou-se com o cobalto a 3,95 Å do O (2) e a 4,15 Å de O (3). O íon cobalto II foi se afastando da molécula de GlcN. Em 0,33 ps estava a 4,09 Å do O(2) e 5,21 Å do O(3) e se coordenando a um oxigênio de uma molécula de água O(w) ( Figura 34 e Figura 35b). Ao longo da simulação o Co<sup>2+</sup> e este O(w) foram se aproximando, ficando em média 1,78 Å de distância. Em 5,29 ps, percebeu-se uma transferência de um hidrogênio de uma molécula de água para o nitrogênio da GlcN, com distância média de 1,06 Å. Estas ligações permaneceram até o final da simulação (Figura 34 e Figura 35b), não havendo formação de complexo entre íon cobalto II e a GlcN.

**Figura 34** - Configurações do sistema GlcNCo<sup>2+</sup>H<sub>2</sub>O. Os parâmetros geométricos representam quatro diferentes configurações iniciais em quatro trajetórias diferentes (T-1, T-2, T-3 e T-4). No esquema, estão representadas as distâncias médias (unidade em Å) de interação entre o tempo inicial de formação do complexo e o tempo final da simulação.

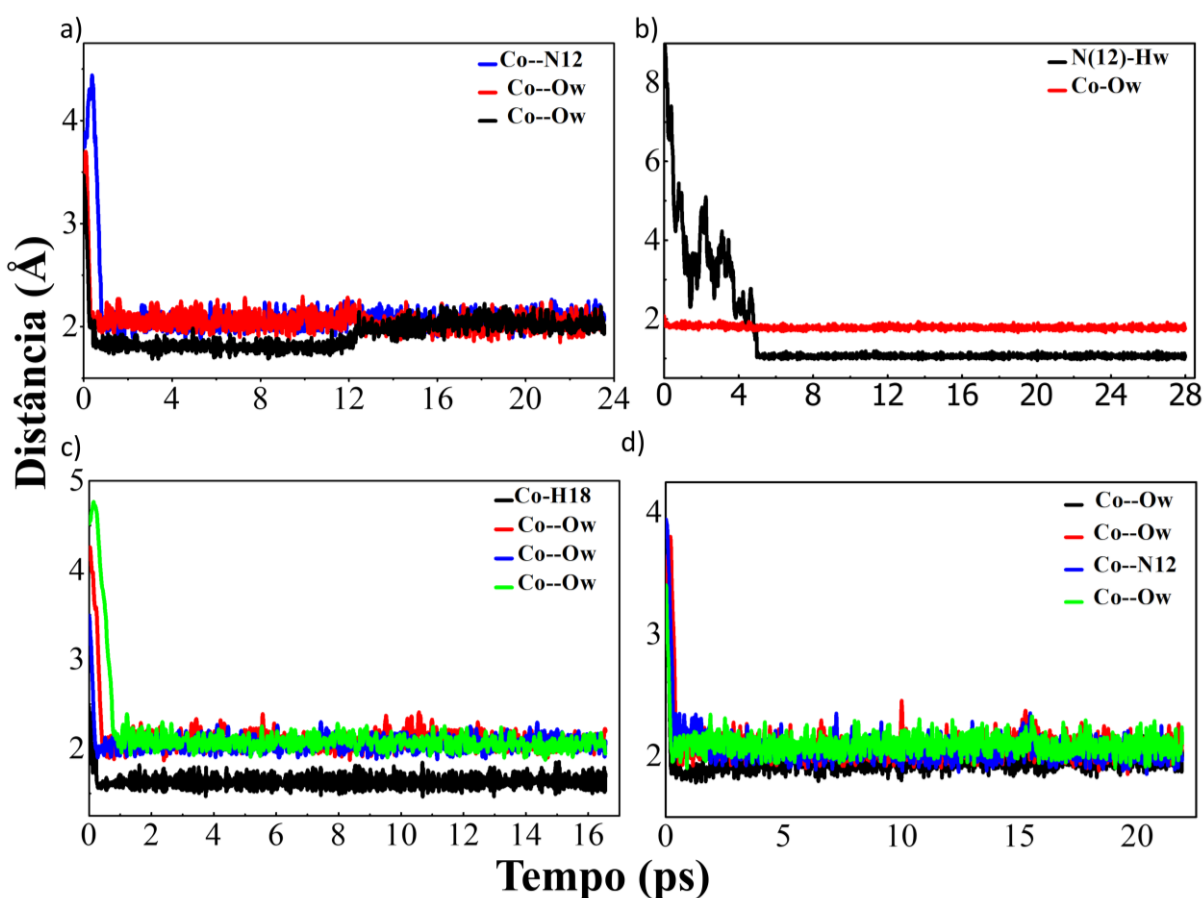


Na trajetória 3 do sistema GlcN e do íon cobalto II solvatado, inicialmente o íon cobalto estava posicionado a 4,34 Å do O(2) e 3,99 Å do O(5) da GlcN. No início da simulação, a cerca de 0,10 ps, houve uma aproximação entre o íon cobalto II e o oxigênio de uma molécula de água (Figura 34 e Figura 35c). O hidrogênio H(18) da molécula da GlcN foi deslocando em direção ao íon cobalto, e em cerca de 0,34 ps houve uma transferência do H(18) que estava ligado ao carbono C(11) para o íon cobalto II. Assim, Co-H(18) afasta-se da molécula de GlcN. Em cerca de 0,35 ps, o íon cobalto II se aproximou do segundo oxigênio de uma molécula de água e a cerca de 0,78 ps do terceiro oxigênio de uma molécula de água. Portanto, o sistema Co-H(18) ficou interagindo com 3 moléculas de água até o final da simulação (Figura 34 e Figura 35c) e não formou complexo com sítios da GlcN

Na trajetória 4 do sistema solvatado, o cobalto foi posicionado a 3,4 Å do N(12) (Figura 35d). Cerca de 0,32 ps depois, o cobalto aproximou-se do N12 e de uma molécula de

água quase simultaneamente. A cerca de 0,53 ps, uma segunda molécula de água se aproximou, e a cerca de 0,71 ps uma terceira molécula de água interagiu com o íon cobalto II, formando o complexo  $\text{GlcN\_Co}^{2+}\text{-H}_2\text{O\_T-4}$ , com geometria tetraédrica, que se mantém até ao final da simulação (Figura 34 e Figura 35d). As distâncias médias de cada interação (Figura 34) mostram que houve uma boa aproximação do cobalto com os sítios da GlcN e as moléculas de água (1,94 Å a 2,09 Å).

**Figura 35** - Evolução temporal das distâncias de interação do cobalto e os sítios da GlcN em ambiente de solvatação aquosa, na a) trajetória 1 (T-1), b) trajetória 2 (T-2), c) trajetória 3 (T-3) e d) trajetória 4 (T-4).



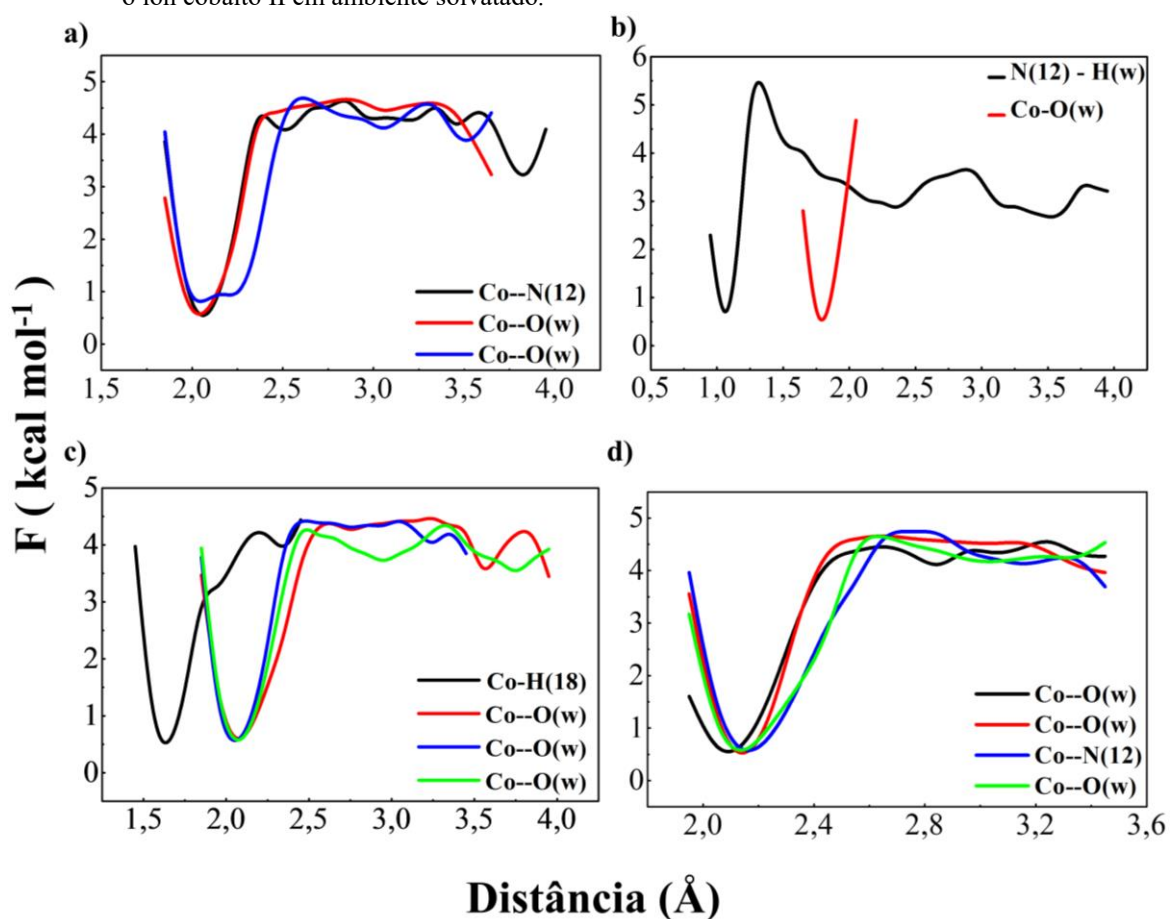
Portanto, em ambiente de solvatação aquoso, só houve complexação do íon cobalto II e GlcN em duas trajetórias, aquelas em que o íon foi posicionado próximo ao grupo amino. Verificou-se, portanto, que só houve interação entre o íon cobalto II e o N(12) da GlcN, não observando interação com os sítios das hidroxilas e do heteroátomo.

Na Figura 36, estão as representações gráficas da energia livre de Helmholtz para as interações e ligações formadas durante as simulações do íon cobalto II com as moléculas de GlcN e água. Nos gráficos da Figura 36a e Figura 36d, todas as barreiras energéticas das

interações Co--N(12) e Co--O(w) são de aproximadamente  $-4 \text{ kcal mol}^{-1}$ . Portanto, conclui-se que todas as interações são favoráveis termodinamicamente nestes dois complexos (GlcN\_Co<sup>2+</sup>\_H<sub>2</sub>O\_T-1 e GlcN\_Co<sup>2+</sup>\_H<sub>2</sub>O\_T-4).

Os gráficos da Figura 36b mostram as energias mínimas em torno de 1 Å e 1,75 Å para as ligações de N(12)-H(w) e Co-O(w) respectivamente, com barreiras energéticas maiores que  $-4 \text{ kcal mol}^{-1}$ . Portanto, energeticamente estável. Por fim, o gráfico da Figura 36c mostra a estabilidade da ligação formada entre Co-H(18) e das interações formadas entre o íon cobalto e os oxigênios das moléculas de água, em ambos os casos, com barreiras energéticas de aproximadamente  $-4 \text{ kcal mol}^{-1}$ . Conclui-se que todas as interações e ligações formadas nas 4 trajetórias são energeticamente favoráveis.

**Figura 36** - Os gráficos mostram a energia livre de Helmholtz para as interações das quatro trajetórias de GlcN e o íon cobalto II em ambiente solvatado.



As análises de QTAIM foram realizadas para as interações que envolveram íon cobalto II e o sítio N(12) da GlcN, como mostra a Tabela 16. Os resultados indicam que para todas as interações entre o íon cobalto e GlcN em ambiente solvatado há presença de

densidade eletrônica no ponto crítico. Foi obtido intervalo  $1 < |V(\mathbf{r})|/G(\mathbf{r}) < 2$  para todas as interações investigadas, o que indica carácter parcialmente covalente nas menores e maiores distância destas interações.

**Tabela 16** - Distâncias (Å) e parâmetros topológicos da densidade de elétrons calculados no nível de teoria M062X/6-311G\*\* para GlcN\_Co<sup>2+</sup>\_H<sub>2</sub>O. Todos os parâmetros  $\rho(\mathbf{r})$ ,  $G(\mathbf{r})$ ,  $V(\mathbf{r})$  e  $\nabla^2\rho(\mathbf{r})$  estão em unidades atômicas (ua).

Interação	d (Å)	$\rho(\mathbf{r})$	$V(\mathbf{r})$	$G(\mathbf{r})$	$\nabla^2\rho(\mathbf{r})$	$ V(\mathbf{r}) /G(\mathbf{r})$
<b>GlcN_Co<sup>2+</sup>_H<sub>2</sub>O_T-1</b>						
Co--N(12)	2,007	0,0863	-0,135	0,122	0,433	1,106
	2,184	0,0581	-0,0744	0,0431	0,261	1,726
<b>GlcN_Co<sup>2+</sup>_H<sub>2</sub>O_T-4</b>						
Co--N(12)	1,885	0,118	-0,202	0,68	0,542	1,202
	2,265	0,0517	-0,0588	0,05376	0,194	1,094

Estas investigações permitiram um entendimento a nível molecular da interação da GlcN com o íon cobalto II na fase gasosa e aquosa, concordando com trabalhos experimentais que mostram a remoção deste íon por sua forma polimérica (quitosanas) (HUI-MIN; XIAN-SU, 2004; MINAMISAWA et al., 1999). Assim, sugerindo que a forma monomérica (GlcN) pode ser eficiente para remover cobalto II.

## 4.8 Avanços, Contribuições e Perspectivas

### 4.8.1 Confrontos com o artigo de solvatação usando Monte Carlo

As análises das ligações de hidrogênio formadas entre os sítios da GlcN e as moléculas de água concordam em parte com os resultados apresentados por Siraleartmukul et al., (2004). Em ambos os estudos, não foram encontradas ligações de hidrogênio envolvendo a hidroxila O(2)-H(22) da GlcN e moléculas de água. No nosso trabalho avançamos as discussões mostrando que tanto o hidrogênio como o oxigênio do grupo hidroxila O(2)-H(20) estão envolvidos em interações intramoleculares, por isso não foram acessíveis para interações com moléculas de água. Este trabalho mostrou ainda análises das interações GlcN-solvente, foram realizadas as análises de TMR mostrando que na média apenas uma ligação de água interage com cada sítio da GlcN (o heteroátomo, o grupo amino e

as hidroxilas, exceto O(2)-H(20)). Totalizando em média 5 moléculas de água na primeira camada de solvatação, cuja extremidade variou de 1,2 Å a 2,8 Å. Houve também uma discordância entre os dois trabalhos, uma vez que Siraleartmukul et al., (2004) sugeriram uma forte ligação de hidrogênio entre O(1) e o hidrogênio da água, conclusão obtida apenas na análise de distribuição radial de pares.

No nosso trabalho, foram realizadas ainda duas análises para classificar a intensidade das interações, sendo uma delas baseada no trabalho de Jeffrey (1997) através de parâmetros geométricos, em que as ligações de hidrogênio intermoleculares foram classificadas como moderadas e a outra análise para verificar a intensidade das interações foi a de QTAIM. Esta análise sugere que as ligações de hidrogênio variando de intensidade fraca a moderada ao longo da simulação, com exceção de N(12)--H(w), que varia de fraca a forte, mostra-se a mais forte dentre as estudadas. Foi realizada ainda a análise de NBO para identificar os orbitais presentes na estabilização das ligações de hidrogênio. A interação N(12)--H(w) mostrou a maior energia de hiperconjugação de todas as analisadas e O(1)--H(w) foi a que apresentou a menor energia de estabilização. Estes entendimentos em nível molecular são muito relevantes, uma vez que as ligações de hidrogênio desempenham um papel importante na estabilidade dos sistemas biológicos, além de reações bioquímicas e catálise enzimática (GRABOWSKI, 2011).

Outra contribuição neste trabalho que não foi vista no do Siraleartmukul et al., (2004), foi a metadinâmica usada para conhecer a barreira energética da transferência de hidrogênio da molécula de água para o grupo amino da GlcN. O grupo amino da GlcN protonada mostra-se importante em processos bioquímicos (DALIRFARDOUEI; KARIMI; JAMIALAHMADI, 2016).

#### 4.8.2 Confrontos com o artigo de complexação de GlcN e Ca<sup>2+</sup>

Nosso trabalho avançou também em relação ao trabalho de Fattahi e colaboradores (2008), que estudaram a interação da GlcN com cálcio, usando nível de cálculo DFT/B3LYP e apenas uma configuração inicial. Aqui usamos DMAI, um método mais adequado para a investigação de processos dinâmicos, como formação de interações e ligações químicas. Foi observado no presente trabalho a estabilidade das interações de cálcio em diferentes sítios da GlcN, uma vez que foram consideradas 4 configurações iniciais para investigações, frente a uma única reportada por Fattahi e colaboradores (2008). No trabalho

de Fattahi e colaboradores (2008), calcularam-se propriedades termodinâmicas, já, neste presente trabalho, foram calculadas energias livres dinamicamente e realizadas análises de QTAIM e NBO, caracterizando-se as interações encontradas. Adicionalmente, realizamos a microssolvatação da interação GlcN\_Ca<sup>2+</sup> uma vez que compreender melhor o processo de solvatação de GlcN\_Ca<sup>2+</sup> permite explorar novas aplicações farmacológicas deste complexo.

#### **4.9 Contribuições/Perspectivas Biológicas e Ambientais**

Uma vez que a GlcN é usada como fármaco ou suplemento alimentar, é de fundamental importância o estudo da solvatação desta molécula, a fim de compreender melhor a interação droga-água em ambientes biológicos (NETO et al., 2018; PLUMRIDGE; WAIGH, 2002). Apesar do meio ambiente e nosso organismo serem mais complexos frente aos ambientes de estudos teóricos, o melhor entendimento em nível molecular das interações da GlcN com moléculas de água pôde mostrar uma visão preliminar da primeira esfera de hidratação deste composto.

Também foi estudada a complexação da GlcN com metais cálcio e cobalto II, por ser outra investigação de interesse na literatura, uma vez que resultados experimentais destes complexos vêm mostrando aplicações farmacológicas e ambientais. Assim, com os resultados obtidos no nosso trabalho, levantamos algumas hipóteses frente a possíveis aplicações da GlcN.

##### **4.9.1 Ação contra a Osteoartrite**

Zhu e colaboradores (2020) relatam a eficiência da quitosana em carrear cálcio para o organismo, contribuindo para melhorias de adsorção intestinal e até óssea. Neste presente trabalho, os cálculos mostraram a eficiência da complexação do monômero da quitosana (GlcN) com íons cálcio na ausência e na presença de água. Dessa forma, sugerindo que investigações experimentais sejam feitas neste sentido, a fim de comprovar os resultados teóricos. Uma vez confirmados, recomenda-se a GlcN como carreadora de cálcio para evitar/tratar problemas ósseos. Uma vez que tanto a GlcN quanto o Ca<sup>2+</sup> são essenciais para a saúde dos ossos, inclusive a GlcN, já vem sendo aplicada no tratamento de osteoartrite. Portanto, é possível que o complexo GlcN\_Ca<sup>2+</sup> possa atuar como suplemento alimentar.

#### 4.9.2 Ação Antimicrobiana

A GlcN, na forma polimérica, apresenta ação antibacteriana e não existem maiores explicações sobre o mecanismo de ação, acredita-se que o grupo amino protonado presente nestas estruturas interage com grupos aniônicos das bactérias e rompem com a barreira da parede celular, extravasando o conteúdo da célula bacteriana, (BAO et al., 2013; DALIRFARDOUEI; KARIMI; JAMIALAHMADI, 2016; KUMAR, 2000; MUCCI et al., 2017). Os resultados das análises de FDRP e TMR da GlcN solvatada mostraram que há apenas uma camada de solvatação nítida em torno da GlcN, são no total, 5 ligações de hidrogênio entre moléculas de água e os sítios do heteroátomo e dos grupos hidroxila e amino. As análises de QTAIM apontaram também que a maioria das intensidades das interações variam de fracas a moderadas. Portanto, existe pouco impedimento estérico aos sítios da GlcN e as interações podem ser rompidas com certa facilidade.

A única interação classificada como forte foi aquela que corresponde à configuração de menor distância entre N(12)--H(w). Os resultados da metadinâmica apontaram que há transferência deste hidrogênio para o nitrogênio e que ocorre com baixa barreira energética ( $0,88 \text{ kcal mol}^{-1}$ ), sendo  $k_B T$  de  $0,59 \text{ kcal mol}^{-1}$ . Então, considerando a presença de moléculas de água no organismo e a temperatura corporal, esta protonação é provável no nosso corpo, inferindo assim a possibilidade deste grupo protonado da GlcN ser capaz de desestabilizar a parede bacteriana (BAO et al., 2013; DALIRFARDOUEI; KARIMI; JAMIALAHMADI, 2016; KUMAR, 2000; MUCCI et al., 2017).

A GlcN com grupo amino protonado e complexada com metais como Fe e Zn vem mostrando ações antimicrobianas (WU et al., 2018). Neste sentido, encontramos dois resultados interessantes: I) A formação do complexo entre GlcN e cálcio na fase gasosa, GlcN\_Ca<sup>2+</sup>\_T-3, em que houve a protonação do grupo amino e II) A trajetória T-3 entre GlcN com o íon Co<sup>2+</sup> em meio aquoso, GlcN\_Co<sup>2+</sup>\_H<sub>2</sub>O\_T-3, que não houve complexação, possivelmente porque o íon cobalto foi posicionado distante do local de preferência de complexação, o nitrogênio da GlcN. Contudo, houve a protonação do grupo amino. A presença dos íons cálcio e cobalto II nestas estruturas não é um agravante, uma vez que em quantidade adequada não é tóxico para o organismo. Portanto, sugerem-se estudos experimentais destes sistemas, com análise das atividades biológicas, para possível comprovação de ação antimicrobiana.

#### 4.9.3 Remoção de íons do meio ambiente

Sendo um contaminante ambiental, o cobalto está presente em rejeitos industriais e em reatores nucleares, além de apresentar a forma radioativa  $\text{Co}^{60}$ . Fazendo necessária sua remoção do meio ambiente, nossos estudos apontam a GlcN como um possível composto para remoção de íons cobalto II, uma vez que como dito anteriormente, diferentes sítios da GlcN em fase gasosa e em meio solvatado mostraram complexação com o metal. A complexação em meio aquoso é interessante, uma vez que os principais locais de possíveis remoções de cobalto sejam meios ambientes e organismos que contêm moléculas de água.

Quitosanas vêm sendo empregadas para remoção de metais pesados como o cobalto. Contudo, sua insolubilidade em água tem sido uma das principais desvantagens do seu uso. Neste trabalho, mostramos em nível molecular que a GlcN coordena com íon cobalto II, em meio aquoso através do N(12) do grupo amino. Sendo uma importante descoberta, uma vez que assim como a quitosana, a GlcN tem baixo custo, fácil acesso, baixa toxicidade e a vantagem de ser solúvel em água.

## CAPÍTULO 5 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

O Método de DMCP mostrou eficiência nos cálculos dos parâmetros geométricos. Os cálculos de solvatação, usando este método, mostraram que a GlcN interage com as moléculas de água. Observou-se a formação de ligações de hidrogênio, intra e intermoleculares. Essas interações afetaram significativamente os parâmetros geométricos da GlcN. As ligações de hidrogênio foram caracterizadas usando QTAIM e NBO. Todas as interações intramoleculares foram classificadas como moderadas, considerando a mais curta distância de ligação, exceto N(12)--H(w) que foi classificada como forte, sendo também a interação com maior energia de estabilização da hiperconjugação dos orbitais. Devido a esta particularidade, a transferência do hidrogênio da molécula de água H(w) para N(12) da GlcN foi investigada usando metadinâmica. Assim, a baixa barreira energética mostrou que a transferência pode ocorrer à temperatura ambiente.

Os resultados obtidos dos cálculos das propriedades, a partir da simulação da DMCP indicam que o íon cálcio forma complexos estáveis com a GlcN, na ausência e na presença de água. Na fase gasosa, os complexos formados foram bi, tri e tetradentado, e até mesmo com protonação do grupo amino. No ambiente de microssolvatação, houve coordenação hexa e heptadentada. As interações em ambos os sistemas (com e sem água) são predominantemente de carácter iônico e existem densidades eletrônicas entre os átomos da interação.

O íon cobalto não só formou interações com a GlcN, mas também reagiu com a molécula. A GlcN mostrou-se eficiente para complexar íons cobalto II, em ambos os ambientes, gasosos e aquosos, com interação de carácter parcialmente covalente. Em ambiente aquoso, observou-se que esta interação ocorre via grupo amino.

Portanto, o conhecimento em nível molecular da solvatação aquosa da GlcN deve ser considerado nas explicações sobre a sua reatividade química e suas atividades biológicas. Uma vez que houve a formação de ligações de hidrogênio, que desempenham papel fundamental em processos bioquímicos. O entendimento molecular da complexação da GlcN com os íons cálcio também contribui para novas pesquisas farmacológicas. Por fim, este trabalho ainda traz perspectivas quanto a contribuições ambientais, no que diz respeito ao entendimento molecular da remoção de cobalto de meios aquosos, por complexação com GlcN.

## REFERÊNCIAS

- ATSDR, CONTACT; CDC-INFO, CONTACT. **Toxic Substances Portal**. 2010.
- ADEWUYI, S. et al. Chitosan-cobalt(II) and nickel(II) chelates as antibacterial agents. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 48, n. 2, p. 301-303, 2011.
- AHSAN, S. M. et al. Chitosan as biomaterial in drug delivery and tissue engineering. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 110, p. 97-109, abr. 2018.
- ALABUGIN, I. V.; GILMORE, K. M.; PETERSON, P. W. Hyperconjugation. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science**, v. 1, n. 1, p. 109-141, 2011.
- ALI, A.; AHMED, S. A review on chitosan and its nanocomposites in drug delivery. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 109, p. 273-286, abr. 2018.
- ALLEN, M. P.; TILDESLEY, D. J. **Computer Simulation of Liquids**. 1 ed. New York, Oxford University Press, 1987.
- AMOLEGBE, S. A. et al. Some nontoxic metal-based drugs for selected prevalent tropical pathogenic diseases. **Journal of Biological Inorganic Chemistry**, v. 22, n. 1, p. 1-18, 2017.
- 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, n. 2, p. 187-201, fev. 2005.
- ANITHA, T. et al. Adsorptive removal of Pb(II) ions from polluted water by newly synthesized chitosan-polyacrylonitrile blend: Equilibrium, kinetic, mechanism and thermodynamic approach. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 98, p. 187-197, nov. 2015.
- ASTANI, E. K. et al. DFT, QTAIM, and NBO studies on the trimeric interactions in the protrusion domain of a piscine betanodavirus. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, v. 78, p. 61-73, 2017.
- AUNE, D. et al. Dairy products, calcium, and prostate cancer risk: A systematic review and meta-analysis of cohort studies. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 101, n. 1, p. 87-117, 2015.
- AZIMI, I.; ROBERTS-THOMSON, S. J.; MONTEITH, G. R. Calcium influx pathways in breast cancer: Opportunities for pharmacological intervention. **British Journal of Pharmacology**, v. 171, n. 4, p. 945-960, 2014.
- BADER, R. F. W. Atoms in molecules. **Accounts of Chemical Research**, v. 18, n. 1, p. 9-15, jan. 1985.
- BAO, Y. et al. Study on the synthesis and antibacterial properties of silver-chitosan composite. **Polymers and Polymer Composites**, v. 21, n. 8, p. 519-524, 2013.
- BARDUCCI, A.; BONOMI, M.; PARRINELLO, M. Metadynamics. **Wiley**

**Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science**, v. 1, n. 5, p. 826-843, set. 2011.

BECKE, A. D. Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. **The Journal of Chemical Physics**, v. 98, n. 7, p. 5648-5652, 1993.

BERENDSEN, H. J. C.; GRIGERA, J. R.; STRAATSMA, T. P. The missing term in effective pair potentials. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 91, n. 24, p. 6269-6271, nov. 1987.

BERGNER, A. et al. Ab initio energy-adjusted pseudopotentials for elements of groups 13–17. **Molecular Physics**, v. 80, n. 6, p. 1431-1441, 20 dez. 1993.

BHATIA, S. C.; CARDELINO, B. H.; RAVI, N. A  $^{57}\text{Fe}$  Mössbauer characterization of Fe-biopolymer complexes and their relevance to biological molecules. **Hyperfine Interactions**, v. 165, n. 1-4, p. 339-344, 2005.

BISSETT, D. L. Glucosamine: an ingredient with skin and other benefits. **Journal of Cosmetic Dermatology**, v. 5, n. 4, p. 309-315, dez. 2006.

BOYD, R. J.; MATTA, F. **The Quantum Theory of Atoms in Molecules**. 1. ed. Weinheim, Germany: Wiley, 2007.

BOYS, S. F. F.; BERNARDI, F. The calculation of small molecular interactions by the differences of separate total energies. Some procedures with reduced errors. **Molecular Physics**, v. 19, n. 4, p. 553-566, 23 out. 1970.

BRAIER, N. C.; JISHI, R. A. Density functional studies of  $\text{Cu}^{2+}$  and  $\text{Ni}^{2+}$  binding to chitosan. **J.Mol.Struct.THEOCHEM**, v. 499, p. 51-55, 2000.

BUCKINGHAM, A. D. D.; DEL BENE, J. E. E.; MCDOWELL, S. A. C. A. C. The hydrogen bond. **Chemical Physics Letters**, v. 463, n. 1-3, p. 1-10, set. 2008.

BURAKOV, A. E. et al. Adsorption of heavy metals on conventional and nanostructured materials for wastewater treatment purposes: A review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 148, p. 702-712, fev. 2018.

CAMPANA FILHO, S. P. .; SIGNINI, R.; CARDOSO, M. B. Propriedades e Aplicações de Quitosana. **Processos Químicos**, v. 1, p. 9-20, 2007.

CAR, R.; PARRINELLO, M. Unified Approach for Molecular Dynamics and Density-Functional Theory. **Physical Review Letters**, v. 55, n. 22, p. 2471-2474, 25 nov. 1985.

CHAI, J. DA; HEAD-GORDON, M. Long-range corrected hybrid density functionals with damped atom-atom dispersion corrections. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 10, n. 44, p. 6615-6620, 2008.

CHANG, Y.; CHEN, D. Recovery of Gold ( III ) Ions by a Chitosan- coated Magnetic nano-adsorbent. **Gold Bulletin**, v. 39, n. 3, p. 98-102, 2006.

CHAUHAN, N.; PUNDIR, C. S. S. Amperometric determination of acetylcholine-A neurotransmitter, by chitosan/gold-coated ferric oxide nanoparticles modified gold electrode. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 61, p. 1-8, nov. 2014.

CHEN, M.-X. et al. Layer-by-layer assembly of chitosan stabilized multilayered liposomes for paclitaxel delivery. **Carbohydrate Polymers**, v. 111, p. 298-304, out. 2014.

CHIGO ANOTA, E.; TORRES SOTO, A.; COCOLETZI, G. H. Studies of graphene–chitosan interactions and analysis of the bioadsorption of glucose and cholesterol. **Applied Nanoscience**, v. 4, n. 8, p. 911-918, 24 nov. 2014.

CHOU, W. Y. et al. Inhibition of PKC-Induced COX-2 and IL-8 Expression in Human Breast Cancer Cells by Glucosamine. **Journal of Cellular Physiology**, v. 230, n. 9, p. 2240-2251, 2015.

CHOWDHURY, S. et al. Heavy metals in drinking water: Occurrences, implications, and future needs in developing countries. **Science of the Total Environment**, v. 569-570, p. 476–488, 2016.

CLARK, T. et al. Efficient diffuse function-augmented basis sets for anion calculations. III. The 3-21+G basis set for first-row elements, Li–F. **Journal of Computational Chemistry**, v. 4, n. 3, p. 294-301, 1983.

COUTINHO, N. D. et al. Stereodynamical origin of anti-arrhenius kinetics: Negative activation energy and roaming for a four-atom reaction. **Journal of Physical Chemistry Letters**, v. 6, n. 9, p. 1553-1558, 7 maio 2015.

COUTINHO, N. D. et al. Stereodirectional Origin of *anti* -Arrhenius Kinetics for a Tetraatomic Hydrogen Exchange Reaction: Born–Oppenheimer Molecular Dynamics for OH + HBr. **The Journal of Physical Chemistry A**, v. 120, n. 27, p. 5408-5417, 14 jul. 2016.

CPMD, T.; DYNAMICS, C. M. **CPMD - An ab initio Electronic Structure and Molecular Dynamics Program**. Versão 4. 1. 0. Copyright IBM Corp 1990-2015, Copyright MPI für Festkörperforschung Stuttgart 1997-2001. <http://www.cpmd.org/>. 2015.

DALIRFARDOUEI, R.; KARIMI, G.; JAMIALAHMADI, K. Molecular mechanisms and biomedical applications of glucosamine as a potential multifunctional therapeutic agent. **Life Sciences**, v. 152, p. 21-29, 2016.

DARWISH, A. A. et al. Adsorption of sugars on Al- and Ga-doped boron nitride surfaces: A computational study. **Applied Surface Science**, v. 377, p. 9-16, 2016.

DÍAZ-CERVANTES, E. et al. Solubility of functionalized single-wall carbon nanotubes in water: a theoretical study. **Theoretical Chemistry Accounts**, v. 136, n. 11, p. 1-10, 2017.

DÍAZ-CERVANTES, E.; ROBLES, J.; AGUILERA-GRANJA, F. Understanding the structure, electronic properties, solubility in water, and protein interactions of three novel nano-devices against ovarian cancer: a computational study. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 20, n. 10, p. 1-11, 2018.

DOLG, M. et al. Energy-adjusted *ab initio* pseudopotentials for the first row transition elements. **The Journal of Chemical Physics**, v. 86, n. 2, p. 866-872, 2002.

DURLAK, P.; LATAJKA, Z. Car–Parrinello and path integral molecular dynamics study of the intramolecular hydrogen bonds in the crystals of benzoylacetone and

dideuterobenzoylacetone. **Phys. Chem. Chem. Phys.**, v. 16, n. 42, p. 23026-23037, 2014.

DUVOISIN, S. et al. Estudo das ligações de hidrogênio para dímeros formados pelas moléculas de H<sub>2</sub>O, NH<sub>3</sub>, HF, HCl e HBr através de cálculos baseados em primeiros princípios. **Quim. Nova**, v. 34, n. 9, p. 1595-1603, 2011.

DYKSTRA, C. E. Electrostatic interaction potentials in molecular force fields. **Chemical Reviews**, v. 93, n. 7, p. 2339-2353, nov. 1993.

EBRAHIMI, J.; AHANGARI, M. G.; JAHANSHAHI, M. Computational studies at the density functional theory (DFT) level about the surface functionalization of hexagonal monolayers by chitosan monomer. **Applied Surface Science**, v. 440, p. 778-789, 2018.

EHRENFEST, P. Bemerkung über die angenäherte Gültigkeit der klassischen Mechanik innerhalb der Quantenmechanik. **Zeitschrift für Physik**, v. 45, n. 7-8, p. 455-457, jul. 1927.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Drinking Water Contaminants - Standards and Regulations** US Environmental Protection Agency, 2016.

ESCÁRCEGA-GALAZ, A. A. et al. Mechanical, structural and physical aspects of chitosan-based films as antimicrobial dressings. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 116, n. 2017, p. 472-481, maio 2018.

FARIA, R. R. et al. Computational study of polymorphic structures of  $\alpha$ - And  $\beta$ - chitin and chitosan in aqueous solution. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, v. 63, p. 78-84, 2016.

FATTAHI, A. et al. DFT / B3LYP Study of Thermochemistry of D-Glucosamine , a Representative Polyfunctional Bioorganic Compound. **Scientia Iranica**, v. 15, n. 4, p. 422-429, 2008.

FAVER, J. C.; ZHENG, Z.; MERZ, K. M. Model for the fast estimation of basis set superposition error in biomolecular systems. **Journal of Chemical Physics**, v. 135, n. 14, p. 144110/1-144110/8, 2011.

FRANCA, E. F. et al. Characterization of Chitin and Chitosan Molecular Structure in Aqueous Solution. **Journal of Chemical Theory and Computation**, v. 4, n. 12, p. 2141-2149, 2008.

FRANCA, E. F.; FREITAS, L. C. G. G.; LINS, R. D. Chitosan molecular structure as a function of N-acetylation. **Biopolymers**, v. 95, n. 7, p. 448-460, jul. 2011.

FRIEDMAN, A. J. et al. Antimicrobial and Anti-Inflammatory Activity of Chitosan–Alginate Nanoparticles: A Targeted Therapy for Cutaneous Pathogens. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 133, n. 5, p. 1231-1239, maio 2013.

FRISCH, M. J.; POPLE, J. A.; BINKLEY, J. S. Self-consistent molecular orbital methods 25. Supplementary functions for Gaussian basis sets. **The Journal of Chemical Physics**, v. 80, n. 7, p. 3265-3269, 1984.

FRISCH MICHAEL J. TRUCKS , G. W. SCHLEGEL, H. B. **Gaussian 09, Revision A.02** Gaussian 09, Revision A.02, 2009.

FU, F.; WANG, Q. Removal of heavy metal ions from wastewaters: A review. **Journal of Environmental Management**, v. 92, n. 3, p. 407-418, 2011.

GE, X. et al. Combined experimental/theoretical study of D-glucosamine promoted Ullmann-type C-N coupling catalyzed by copper(I): Does amino really count? **RSC Advances**, v. 6, n. 35, p. 29638-29645, 2016.

GIANNOZZI, P. et al. QUANTUM ESPRESSO: a modular and open-source software project for quantum simulations of materials. **Journal of Physics: Condensed Matter**, v. 21, n. 39, p. 395502/1-395502/19, 2009.

GOMES, J. R. B.; JORGE, M.; GOMES, P. Interaction of chitosan and chitin with Ni, Cu and Zn ions: A computational study. **Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 73, p. 121-129, 2014.

GONÇALVES, R. C. et al. Inhibition of bacterial biofilms by carboxymethyl chitosan combined with silver, zinc and copper salts. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 105, p. 385-392, dez. 2017.

GRABOWSKI, S. J. What Is the Covalency of Hydrogen Bonding? **Chemical Reviews**, v. 111, n. 4, p. 2597-2625, 2011.

HALGREN, T. A.; DAMM, W. Polarizable force fields. **Current Opinion in Structural Biology**, v. 11, n. 2, p. 236-242, abr. 2001.

HAMPRECHT, F. A. et al. Development and assessment of new exchange-correlation functionals. **The Journal of Chemical Physics**, v. 109, n. 15, p. 6264-6271, 2002.

HAN, C. et al. Structural Dynamics of *N*-Propionyl- d -glucosamine Probed by Infrared Spectroscopies and Ab Initio Computations. **The Journal of Physical Chemistry A**, v. 117, n. 29, p. 6105-6115, 2013.

HARRISON, W. T. A. et al. Redetermination of  $\alpha$ -d-glucosamine hydrochloride: Elucidation of the hydrogen-bonding scheme. **Acta Crystallographica Section E: Structure Reports Online**, v. 63, n. 7, p. o3248/1-9, 2007.

HASSAN, B. et al. A DFT based analysis of adsorption of Hg 2 + ion on chitosan monomer and its citralidene and salicylidene derivatives : Prior to the removal of Hg toxicity. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 99, p. 549-554, jun. 2017.

HASSAN, B.; MURALEEDHARAN, K.; ABDUL MUJEEB, V. M. Density functional theory studies of Pb (II) interaction with chitosan and its derivatives. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 74, p. 483-488, 2015.

HASSANALI, A. A. et al. Aqueous solutions: state of the art in ab initio molecular dynamics. **Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences**, v. 372, n. 2011, p. 20120482/1-32, fev. 2014.

HATHCOCK, J. N.; SHAO, A. Risk assessment for glucosamine and chondroitin sulfate. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 47, n. 1, p. 78-83, fev. 2007.

HAY, P. J.; WADT, W. R. Ab initio effective core potentials for molecular calculations.

Potentials for K to Au including the outermost core orbitale. **The Journal of Chemical Physics**, v. 82, n. 1, p. 299-310, 1985.

HONG, P. K.; BETTI, M. Non-enzymatic browning reaction of glucosamine at mild conditions: Relationship between colour formation, radical scavenging activity and  $\alpha$ -dicarbonyl compounds production. **Food Chemistry**, v. 212, p. 234-243, 2016.

HUAI-MIN, G.; XIAN-SU, C. Study of cobalt(II)-chitosan coordination polymer and its catalytic activity and selectivity for vinyl monomer polymerization. **Polymers for Advanced Technologies**, v. 15, n. 12, p. 89-92, 2004.

HUANG, B.; LIU, M.; ZHOU, C. Chitosan composite hydrogels reinforced with natural clay nanotubes. **Carbohydrate Polymers**, v. 175, p. 689-698, nov. 2017.

HUGHES, R.; CARR, A. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of glucosamine sulphate as an analgesic in osteoarthritis of the knee. **Rheumatology**, v. 41, n. 3, p. 279-284, 2002.

HUMPHREY, W.; DALKE, A.; SCHULTEN, K. VMD: Visual molecular dynamics. **Journal of Molecular Graphics**, v. 14, n. 1, p. 33-38, fev. 1996.

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

HWANG, M. S.; BAEK, W. K. Glucosamine induces autophagic cell death through the stimulation of ER stress in human glioma cancer cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 399, n. 1, p. 111-116, 2010.

HYPERCUBE INC. **HyperChem, Release 7.0** Gainesville, FL, 2001.

ILCHENKO, N. N.; LESZCZYNSKI, J. Ab initio study of interactions between D-glucosamine and  $\text{Cd}^{2+}(\text{H}_2\text{O})_n$ ,  $n=0,2,4$ . **Journal of Molecular Structure: THEOCHEM**, v. 683, n. 1-3, p. 23-27, 2004.

IMPEY, R. W.; MADDEN, P. A.; MCDONALD, I. R. Hydration and mobility of ions in solution. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 87, n. 25, p. 5071-5083, dez. 1983.

JAMIALAHMADI, K. **Beneficial applications of glucosamine**. Mashhad, Iran. Academic Press, 2019.

JÄRUP, L. Hazards of heavy metal contamination. **British Medical Bulletin**, v. 68, n. 68, p. 167-182, 2003.

JEFFREY, G. A. **An Introduction to Hydrogen Bonding**. 1. ed. New York, Oxford university press, 1997.

JEREMIĆ, S. et al. Insight into interaction properties between mercury and lead cations with chitosan and chitin: Density functional theory studies. **Computational and Theoretical Chemistry**, v. 1138, p. 99-106, 2018.

JIA, L. et al. Mechanism of the self-condensation of  $\text{GlcNH}_2$ : insights from in situ NMR

spectroscopy and DFT study. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 202, p. 420-429, 2017.

JUÁREZ, A. R. et al. Adsorption of chitosan on BN nanotubes: A DFT investigation. **Applied Surface Science**, v. 268, p. 259-264, 1 mar. 2013.

JUNG, C. W. et al. Anti-cancer properties of glucosamine-hydrochloride in YD-8 human oral cancer cells: Induction of the caspase-dependent apoptosis and down-regulation of HIF-1 $\alpha$ . **Toxicology in Vitro**, v. 26, n. 1, p. 42-50, 2012.

KAUR, S.; DHILLON, G. S. The versatile biopolymer chitosan: Potential sources, evaluation of extraction methods and applications. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 40, n. 2, p. 155-175, 14 maio 2014.

KIKUCHI, S. et al. Cobalt inhibits motility of axonal mitochondria and induces axonal degeneration in cultured dorsal root ganglion cells of rat. **Cell Biology and Toxicology**, v. 34, n. 2, p. 93-107, 2018.

KOHN, W.; SHAM, L. J. Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects. **Physical Review**, v. 140, n. 4A, p. A1133-A1138, 15 nov. 1965.

KOTENA, Z. M.; FATTAHI, A. Comparison of acidity and metal ion affinity of D-Glucosamine and N-acetyl-D-glucosamine, a DFT study. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, v. 98, p. 107612/1-107612/10, 2020.

KUMAR, M. A review of chitin and chitosan applications. **Reactive & Functional Polymers**, v. 46, n. 1, p. 1-27, 2000.

KUMAR, P. S. et al. Adsorption behavior of nickel(II) onto cashew nut shell: Equilibrium, thermodynamics, kinetics, mechanism and process design. **Chemical Engineering Journal**, v. 167, n. 1, p. 122-131, fev. 2011.

KUMAR, P. S. V.; RAGHAVENDRA, V.; SUBRAMANIAN, V. Bader's Theory of Atoms in Molecules (AIM) and its Applications to Chemical Bonding. **Journal of Chemical Sciences**, v. 128, n. 10, p. 1527-1536, 2016.

LAASONEN, Kari et al. Car-Parrinello molecular dynamics with Vanderbilt ultrasoft pseudopotentials. **Physical Review B**, v. 47, n. 16, p. 10142-10153, 1993.

LABIDI, A. et al. Adsorption of copper on chitin-based materials: Kinetic and thermodynamic studies. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 65, p. 140-148, ago. 2016.

LAI, A.; GERVASIO, F. L. Metadynamics: A method to simulate rare events and reconstruct the free energy in biophysics, chemistry and material science. **Reports on Progress in Physics**, v. 71, n. 12, p. 126601/1-22, 2008.

LAI, A.; PARRINELLO, M. Escaping free-energy minima. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 99, n. 20, p. 12562-12566, out. 2002.

LANHAM-NEW, S. A. Importance of calcium, vitamin D and vitamin K for osteoporosis prevention and treatment. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 67, n. 2, p. 163-176, 2008.

LARANJEIRA, M. C. M.; FÁVERE, V. T. DE. Quitosana: biopolímero funcional com potencial industrial biomédico. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 672-678, 2009.

LEE; YANG; PARR. Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. **Physical review. B, Condensed matter**, v. 37, n. 2, p. 785-789, jan. 1988.

LEVENGOOD, S. K. L.; ZHANG, M. Chitosan-based scaffolds for bone tissue engineering. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 2, n. 21, p. 3161- 3184, 2014.

LEVINE, I. N. **Quantum Chemistry**. New Jersey, Pearson Prentice Hall, 2000.

LIU, B.-Q. et al. Glucosamine induces cell death *via* proteasome inhibition in human ALVA41 prostate cancer cell. **Experimental and Molecular Medicine**, v. 43, n. 9, p. 487-493, 2011.

LIU, L. et al. Microbial production of glucosamine and N-acetylglucosamine: Advances and perspectives. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 97, n. 14, p. 6149-6158, 2013.

LIVERANI, L. et al. Incorporation of bioactive glass nanoparticles in electrospun PCL/chitosan fibers by using benign solvents. **Bioactive Materials**, v. 3, n. 1, p. 55-63, mar. 2018.

LOCK, A. J.; WOUTERSEN, S.; BAKKER, H. J. Ultrafast energy equilibration in hydrogen-bonded liquids. **Journal of Physical Chemistry A**, v. 105, n. 8, p. 1238-1243, 2001.

LOPES JÚNIOR, O. V.; INÁCIO, E A. M. Uso de glucosamina e condroitina no tratamento da osteoartrose: uma revisão da literatura. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 48, n. 4, p. 300-306, 2013.

LÜ, R.; CAO, Z.; SHEN, G. Comparative study on interaction between copper (II) and chitin/chitosan by density functional calculation. **Journal of Molecular Structure: THEOCHEM**, v. 860, n. 1-3, p. 80-85, 2008.

LU, T.; CHEN, F. Multiwfn: A multifunctional wavefunction analyzer. **Journal of Computational Chemistry**, v. 33, n. 5, p. 580-592, 15 fev. 2012.

LUO, X. et al. An effective and recyclable adsorbent for the removal of heavy metal ions from aqueous system: Magnetic chitosan/cellulose microspheres. **Bioresource Technology**, v. 194, p. 403-406, out. 2015.

MARTYNA, G. J.; KLEIN, M. L.; TUCKERMAN, M. Nosé-Hoover chains: The canonical ensemble via continuous dynamics. **The Journal of Chemical Physics**, v. 97, n. 4, p. 2635-2643, 15 ago. 1992.

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

- MCALINDON, T. E. et al. Glucosamine and Chondroitin for Treatment of Osteoarthritis : a systematic quality assessment and meta-analysis. **Jama**, v. 283, n. 11, p. 1469 -1475, mar. 2000.
- MCCAMMON, J. Andrew; GELIN, Bruce R.; KARPLUS, Martin. Dynamics of folded proteins. **Nature**, v. 267, n. 5612, p. 585-590, 1977.
- METROPOLIS, N. et al. Equation of state calculations by fast computing machines. **The Journal of Chemical Physics**, v. 21, n. 6, p. 1087-1092, 1953.
- MINAMISAWA, H. et al. Adsorption behavior of cobalt(II) on chitosan and its determination by tungsten metal furnace atomic absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 378, n. 1-3, p. 279-285, 1999.
- MINCH, M. J. **An Introduction to Hydrogen Bonding (Jeffrey, George A.)**. New York, Oxford University Press, 1999.
- MIR, J. M.; RAJAK, D. K.; MAURYA, R. C. Bacterial sensitivity and SOD behavior of N-pyrone glucosamine Schiff base Fe(III) complex: conjoint experimental-DFT evaluation. **Journal of Coordination Chemistry**, v. 70, n. 18, p. 3199-3216, 2017.
- MU, X. et al. Theoretical study of the reaction of chitosan monomer with 2,3-epoxypropyl-trimethyl quaternary ammonium chloride catalyzed by an imidazolium-based ionic liquid. **Carbohydrate Polymers**, v. 146, p. 46-51, 2016.
- MUCCI, M. et al. Chitosan as coagulant on cyanobacteria in lake restoration management may cause rapid cell lysis. **Water Research**, v. 118, p. 121-130, 2017.
- NETO, A. P. V. V. et al. Explicit Aqueous Solvation Treatment of Epinephrine from Car-Parrinello Molecular Dynamics: Effect of Hydrogen Bonding on the Electronic Absorption Spectrum. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 122, n. 35, p. 8439-8450, 6 set. 2018.
- NGUYEN, R. L. et al. Intracellular calcium dysregulation in autism spectrum disorder: An analysis of converging organelle signaling pathways. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research**, v. 1865, n. 11, p. 1718-1732, 2018.
- NISHAD, P. A. et al. Cobalt (II) imprinted chitosan for selective removal of cobalt during nuclear reactor decontamination. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, n. 4, p. 2690-2696, 2012.
- OH, H. J. et al. d-Glucosamine inhibits proliferation of human cancer cells through inhibition of p70S6K. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 360, n. 4, p. 840-845, 2007.
- OLIVEIRA, B. G.; ARAÚJO, R. C. M. U.; RAMOS, M. N. A Topologia molecular qtaim e a descrição mecânico- quântica de ligações de hidrogênio e ligações de di-hidrogênio. **Quimica Nova**, v. 33, n. 5, p. 1155-1162, 2010.
- PARK, J. H. et al. Glucosamine suppresses platelet-activating factor-induced activation of microglia through inhibition of store-operated calcium influx. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 42, p. 1-8, 2016.

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

PERDEW, J. P. et al. Atoms, molecules, solids, and surfaces: Applications of the generalized gradient approximation for exchange and correlation. **Physical Review B**, v. 46, n. 11, p. 6671-6687, 15 set. 1992.

PERDEW, J. P.; BURKE, K.; ERNZERHOF, M. Generalized Gradient Approximation Made Simple. **Physical Review Letters**, v. 77, n. 18, p. 3865-3868, 28 out. 1996.

PLUMRIDGE, T. H.; WAIGH, R. D. Water structure theory and some implications for drug design. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 54, n. 9, p. 1155-1179, 2002.

QUASTEL, J. H.; CANTERO, A. Inhibition of Tumour Growth by D-Glucosamine. **Nature**, v. 171, n. 4345, p. 252-254, 7 fev. 1953.

RAFIQUE, A. et al. Chitosan functionalized poly(vinyl alcohol) for prospects biomedical and industrial applications: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 87, p. 141-154, jun. 2016.

RAPAPORT, D. C. **The art of molecular dynamics simulation**. Cambridge University Press, 2004.

RAVI KUMAR, M. N. . A review of chitin and chitosan applications. **Reactive and Functional Polymers**, v. 46, n. 1, p. 1-27, nov. 2000.

RECZEK, C. R.; CHANDEL, N. S. ROS Promotes Cancer Cell Survival through Calcium Signaling. **Cancer Cell**, v. 33, n. 6, p. 949-951, 2018.

REED, A. E.; CURTISS, L. A.; WEINHOLD, F. Intermolecular Interactions from a Natural Bond Orbital, Donor—Acceptor Viewpoint. **Chemical Reviews**, v. 88, n. 6, p. 899-926, 1988.

ROBERTS, G. **Chitin Chemistry**. London: Macmillan, 1992.

ROGINA, A. et al. Tuning physicochemical and biological properties of chitosan through complexation with transition metal ions. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 129, p. 645-652, 2019.

ROZAS, I.; ALKORTA, I.; ELGUERO, J. Behavior of Ylides Containing N, O, and C Atoms as Hydrogen Bond Acceptors. **Journal of the American Chemical Society**, v. 122, n. 45, p. 11154-11161, nov. 2000.

SADEGHI-KIAKHANI, M.; ARAMI, M.; GHARANJIG, K. Preparation of chitosan-ethyl acrylate as a biopolymer adsorbent for basic dyes removal from colored solutions. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 1, n. 3, p. 406-415, set. 2013.

SALEHI, E.; DARAEI, P.; ARABI SHAMSABADI, A. A review on chitosan-based adsorptive membranes. **Carbohydrate Polymers**, v. 152, p. 419-432, 2016.

- SANTHOSH, S.; MATHEW, P. T. Preparation and properties of glucosamine and carboxymethylchitin from shrimp shell. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 107, n. 1, p. 280-285, 5 jan. 2008.
- SCHERAGA, H. A.; KHALILI, M.; LIWO, A. Protein-Folding Dynamics: Overview of Molecular Simulation Techniques. **Annual Review of Physical Chemistry**, v. 58, n. 1, p. 57-83, maio 2007.
- SERRANO, A.; SANTOS, F. M. T. T.; GRECA, I. M. Teaching ionic solvation structure with a Monte Carlo liquid simulation program. **Journal of Chemical Education**, v. 81, n. 9, p. 1322-1329, set. 2004.
- SHAJAHAN, A. et al. Comparative studies of chitosan and its nanoparticles for the adsorption efficiency of various dyes. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 104, p. 1449-1458, nov. 2017.
- SHANAHAN, C. M. et al. Arterial calcification in chronic kidney disease: Key roles for calcium and phosphate. **Circulation Research**, v. 109, n. 6, p. 697-711, 2011.
- SHANCHES NETO, F. O. et al. Teorias e Protocolos para Simulações Quânticas de Dinâmicas Moleculares de Car-Parrinello e Metadinâmica. **Processos Químicos**, v. 12, p. 11-24, 2018.
- SHAUNAK, S. et al. Polyvalent dendrimer glucosamine conjugates prevent scar tissue formation. **Nature Biotechnology**, v. 22, n. 8, p. 977-984, 18 ago. 2004.
- SHEN, Jia-Wei et al. Molecular dynamics study on the mechanism of polynucleotide encapsulation by chitosan. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 1-9, 2017.
- SILVA, V. H. C. et al. Theoretical investigation of the interaction of glycerol with aluminum and magnesium phthalocyanines. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, v. 29, n. 2, p. 206-213, 2010.
- SIRALEARTMUKUL, K. et al. Solvation structure of glucosamine in aqueous solution as studied by Monte Carlo simulation using ab initio fitted potential. **Chemical Physics Letters**, v. 395, n. 4-6, p. 233-238, set. 2004.
- SKOVSTRUP, S. et al. Conformational Flexibility of Chitosan: A Molecular Modeling Study. **Biomacromolecules**, v. 11, n. 11, p. 3196-3207, 2010.
- SOVA, M. et al. D-Glucosamine in iron-catalysed cross-coupling reactions of Grignards with allylic and vinylic bromides: Application to the synthesis of a key sitagliptin precursor. **Applied Organometallic Chemistry**, v. 29, n. 8, p. 528-535, 2015.
- SPEZIA, R. et al. A coupled car-parrinello molecular dynamics and EXAFS data analysis investigation of aqueous  $\text{Co}^{2+}$ . **Journal of Physical Chemistry A**, v. 110, n. 48, p. 13081-13088, 2006.
- STEINER, T. The hydrogen bond in the solid state. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 41, n. 1, p. 48-76, 2002.
- STILLINGER, F. H.; RAHMAN, A. Improved simulation of liquid water by molecular

dynamics. **The Journal of Chemical Physics**, v. 60, n. 4, p. 1545-1574, fev. 1974.

SZABO, A.; OSTLUND, N. S. **Modern quantum chemistry : introduction to advanced electronic structure theory**. New York, Dover Publications, 1996.

TAYYEM, M. T.; ZUGHUL, M. B.; ALMATARNEH, M. H. Molecular dynamics simulation of N-octyl-N-quaternized chitosan derivatives as a drug carrier. **Journal of Theoretical and Computational Chemistry**, v. 17, n. 4, p. 1-16, 2018.

TERESHCHUK, P. L. Energetic and magnetic properties of chitosan with embedded Co clusters. **Computational Materials Science**, v. 50, n. 3, p. 991-997, 2011.

TERREUX, R. et al. Interactions Study between the Copper II Ion and Constitutive Elements of Chitosan Structure by DFT Calculation. **Biomacromolecules**, v. 7, n. 1, p. 31-37, jan. 2006.

TOWHEED, T. et al. Glucosamine therapy for treating osteoarthritis (Review). **Cochrane Database of Systematic Reviews Glucosamine**, n. 4, p. 1-34, 2009.

TROULLIER, N.; MARTINS, J. L. Efficient pseudopotentials for plane-wave calculations. **Physical Review B**, v. 43, n. 3, p. 1993-2006, jan. 1991.

TSAI, C. Y. et al. Glucosamine inhibits IL-1 $\beta$ -mediated IL-8 production in prostate cancer cells by MAPK attenuation. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 108, n. 2, p. 489-498, 2009.

TUCKERMAN, M. E.; PARRINELLO, M. Integrating the Car-Parrinello equations. I. Basic integration techniques. **The Journal of Chemical Physics**, v. 101, n. 2, p. 1302-1315, 1994.

TUCKERMAN, M. E.; ROSENVINGE, T. VON; KLEIN, M. L. Ab Initio Molecular Dynamics Simulations of Molecular Crystals. **MRS Proceedings**, v. 408, n. 96, p. 12878-12887, 2011.

URBANSKA, J.; KOZLOWSKI, H. Polarographic studies on the complexation of cobalt (ii), nickel (ii) and copper(ii) with d-glucosamine and d-galactosamine. **Analytical Chimica Acta**, v. 207, p. 85-94, 1988.

VANDERBILT, D. Soft self-consistent pseudopotentials in a generalized eigenvalue formalism. **Physical Review B**, v. 41, n. 11, p. 7892-7895, 15 abr. 1990.

VCHIRAWONGKWIN, V.; KRITAYAKORNUPONG, C.; RODE, B. M. Structural and dynamical properties and vibrational spectra of bisulfate ion in water: A study by ab initio quantum mechanical charge field molecular dynamics. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 114, n. 35, p. 11561-11569, 9 set. 2010.

VERLET, L. Computer "Experiments" on Classical Fluids. I. Thermodynamical Properties of Lennard-Jones Molecules. **Physical Review**, v. 159, n. 1, p. 98-103, 5 jul. 1967.

VERLET, L. Computer "experiments" on classical fluids. II. Equilibrium correlation functions. **Physical Review**, v. 165, n. 1, p. 201-214, 5 jan. 1968.

WAN NGAH, W. S.; TEONG, L. C.; HANAFIAH, M. A. K. M. Adsorption of dyes and

heavy metal ions by chitosan composites: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, n. 4, p. 1446-1456, 2011.

WANG, H. et al. Removal of cobalt(II) ion from aqueous solution by chitosan-montmorillonite. **Journal of Environmental Sciences (China)**, v. 26, n. 9, p. 1879-1884, 2014.

WEIGEND, F.; AHLRICHS, R. Balanced Basis Sets of Split Valence, Triple Zeta Valence and Quadruple Zeta Valence. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 7, p. 3297-3305, 2005.

WU, S. et al. Antimicrobial and antioxidant capacity of glucosamine-zinc(II) complex via non-enzymatic browning reaction. **Food Science and Biotechnology**, v. 27, n. 1, p. 1-7, 2018.

XUE, J. et al. The Theoretical Research of Constitutive Property, Reactivity and FTIR of Chitosan. **Materials Science Forum**, v. 658, p. 177-180, 2010.

YOUNES, I.; RINAUDO, M. Chitin and Chitosan Preparation from Marine Sources. Structure, Properties and Applications. **Marine Drugs**, v. 13, n. 3, p. 1133-1174, 2 mar. 2015.

ZAHEDIPOUR, F. et al. Molecular mechanisms of anticancer effects of Glucosamine. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 95, p. 1051-1058, nov. 2017.

ZENG, C. et al. Effectiveness and safety of Glucosamine, chondroitin, the two in combination, or celecoxib in the treatment of osteoarthritis of the knee. **Scientific Reports**, v. 5, n. 1, p. 16827/1-10, 18 dez. 2015.

ZHANG, J.; YAN, N. Production of Glucosamine from Chitin by Co-solvent Promoted Hydrolysis and Deacetylation. **ChemCatChem**, v. 9, n. 14, p. 2790-2796, 2017.

ZHANG, L.; ZENG, Y.; CHENG, Z. Removal of heavy metal ions using chitosan and modified chitosan: A review. **Journal of Molecular Liquids**, v. 214, p. 175-191, fev. 2016.

ZHAO, Y.; TRUHLAR, D. G. The M06 suite of density functionals for main group thermochemistry, thermochemical kinetics, noncovalent interactions, excited states, and transition elements: Two new functionals and systematic testing of four M06-class functionals and 12 other function. **Theoretical Chemistry Accounts**, v. 120, n. 1-3, p. 215-241, 2008.

ZHONG, Y.; BAUER, B. A.; PATEL, S. Solvation properties of N-acetyl- $\beta$ -glucosamine: Molecular dynamics study incorporating electrostatic polarization. **Journal of Computational Chemistry**, v. 32, n. 16, p. 3339-3353, 2011.

ZHU, B. et al. Two novel calcium delivery systems fabricated by casein phosphopeptides and chitosan oligosaccharides: Preparation, characterization, and bioactive studies. **Food Hydrocolloids**, v. 102, p. 105567/1-36, 2020.

## ANEXO A – TABELA S1

**Tabela S1.** Parâmetros geométricos da GlcN obtidos utilizando os níveis de teorias, CPMD/PBE, CCSD/6-311++G(d,p) e DFT/PBE/6-311+G(d,p). Os dados de raios X também foram incluídos para fins de comparação. O comprimento da ligação e os ângulos interatômicos são dados em Angstroms (Å) e graus (°), respectivamente. As colunas 2 e 9 representam a simulação de CPMD de uma única molécula de GlcN e uma molécula de GlcN mais 80 moléculas de água, respectivamente.

Parâmetros geométricos	DMCP Fase gaosa	CCSD	PBE	X-ray	Dif-1°	Dif-2°	Dif-3°	DMCP solvatada	Dif-4°
O1-C6	1.426±0.035	1.399	1.423	1.404	1.893	0.210	1.543	1.445±0.036	1.332
C6-O3	1.447±0.037	1.431	1.441	1.425	1.106	0.415	1.520	1.433±0.035	0.968
C6-C7	1.546±0.035	1.535	1.548	1.490	0.712	0.129	3.622	1.550±0.035	0.259
C7-N12	1.485±0.033	1.466	1.459	1.499	1.279	1.751	0.943	1.489±0.034	0.269
C7-C8	1.552±0.036	1.546	1.544	1.529	0.387	0.515	1.482	1.559±0.037	0.451
C8-O4	1.443±0.034	1.416	1.438	1.403	1.871	0.347	2.772	1.446±0.034	0.208
C8-C9	1.549±0.035	1.539	1.543	1.521	0.646	0.387	1.808	1.549±0.035	0.000
C9-O5	1.443±0.033	1.430	1.440	1.456	0.901	0.208	0.901	1.446±0.033	0.208
C9-C10	1.550±0.036	1.540	1.548	1.535	0.645	0.129	0.968	1.543±0.035	0.452
C10-C11	1.537±0.035	1.533	1.535	1.538	0.260	0.130	0.065	1.538±0.035	0.065
C11-O2	1.446±0.033	1.418	1.430	1.446	1.936	1.107	0.000	1.446±0.033	0.000
C10-O1	1.466±0.035	1.433	1.446	1.486	2.251	1.364	1.364	1.464±0.035	0.136
C6-H15	1.111±0.032	1.093	1.102	-	1.620	0.810	-	1.108±0.030	0.270
C7-H13	1.112±0.032	1.098	1.105	-	1.259	0.629	-	1.108±0.031	0.360
C8-H16	1.110±0.031	1.096	1.101	-	1.261	0.811	-	1.109±0.031	0.090
C9-H14	1.111±0.032	1.099	1.108	-	1.080	0.270	-	1.113±0.031	0.180
C10-H17	1.110±0.031	1.099	1.107	-	0.991	0.270	-	1.111±0.030	0.090
C11-H18	1.111±0.031	1.096	1.105	-	1.350	0.540	-	1.111±0.031	0.000
C11-H19	1.109±0.031	1.098	1.105	-	0.992	0.361	-	1.108±0.031	0.090
O2-H20	0.990±0.027	0.967	0.987	-	2.323	0.303	-	1.002±0.028	0.212
O3-H21	0.987±0.027	0.961	0.982	-	2.634	0.507	-	1.007±0.031	2.026
O4-H22	0.994±0.027	0.967	0.989	-	2.716	0.503	-	1.005±0.030	1.107
O5-H25	0.993±0.028	0.960	0.972	-	3.323	2.115	-	0.99±0.028	0.101
N12-H23	1.028±0.027	1.016	1.022	-	1.167	0.584	-	1.033±0.027	0.486
N12-H24	1.028±0.027	1.016	1.023	-	1.167	0.486	-	1.033±0.027	0.486
C6-C7-N12	109.31±3.62	107.29	115.34	110.31	1.85	5.52	0.91	111.19±3.07	1.720
O1-C6-C7	113.57±3.33	113.36	112.95	111.26	0.18	0.55	2.03	113.22±3.17	0.308
O1-C6-O3	112.33±3.34	108.35	112.06	114.96	3.54	0.24	2.34	111.88±3.09	0.401
C6-C7-C8	111.22±3.24	112.15	108.94	111.26	0.84	2.05	0.04	114.32±2.82	2.787
C8-C9-C10	113.61±2.72	114.11	113.86	109.52	0.44	0.22	3.60	113.10±2.76	0.449
C9-C10-O1	113.30±3.31	113.11	114.18	107.55	0.17	0.78	5.08	111.19±3.07	1.862
C10-O1-C6	119.31±3.25	119.18	119.13	111.23	0.11	0.15	6.77	118.20±3.08	0.872
N12-C7-C8	108.93±3.40	114.95	110.93	105.55	5.53	1.84	3.10	112.78±3.41	3.534
C7-C8-O4	110.80±3.87	112.47	109.84	109.95	1.51	0.87	0.77	112.53±3.53	1.561
C7-C8-C9	110.57±2.78	111.18	111.59	108.28	0.55	0.92	2.07	112.23±2.96	1.501
O4-C8-C9	113.18±3.52	112.40	111.64	112.53	0.69	1.36	0.57	111.81±3.31	1.210
C8-C9-O5	110.07±3.29	105.55	115.34	108.99	4.11	4.79	0.98	108.41±4.02	1.508
C9-C10-C11	116.26±3.72	115.10	112.95	113.10	0.100	2.85	2.72	116.55±3.52	0.249
C10-C11-O2	115.45±3.58	115.34	112.06	111.52	0.09	2.94	3.404	115.65±3.30	0.173
C11-C10-O1	105.61±4.39	113.32	108.94	106.37	7.30	3.15	0.720	112.70±3.43	6.723
O3-C6-C7	110.08±3.58	112.21	113.86	108.17	1.93	3.43	1.735	110.58±3.62	0.454
O5-C9-C10	110.16±3.41	110.21	114.18	108.99	0.04	3.65	1.062	108.44±3.66	1.561
C10-C11-H18	108.34±4.35	107.86	108.86	-	0.44	0.48	-	108.19±4.37	0.138
C6-O3-H21	106.74±4.46	107.94	105.91	-	1.12	0.78	-	107.74±4.51	0.937
C6-C7-H13	107.08±4.14	107.81	107.00	-	0.68	0.07	-	106.60±4.15	0.448
H13-C7-N12	112.11±4.25	107.51	107.68	-	4.10	3.95	-	107.69±4.05	3.942
H23-N12-H24	107.29±4.97	105.91	108.49	-	1.29	1.12	-	105.32±5.08	1.836
C7-N12-H23	110.94±4.72	109.27	110.78	-	1.50	0.14	-	108.86±4.51	1.875
C7-N12-H24	110.52±4.74	109.25	110.77	-	1.15	0.22	-	108.90±4.54	1.466
C7-C8-H16	108.20±4.23	107.56	108.20	-	0.5	0.00	-	107.19±3.99	0.933
H16-C8-O4	106.70±4.09	106.40	108.07	-	0.28	1.28	-	105.33±3.87	1.284
C8-O4-H22	108.36±4.21	108.86	109.10	-	0.461	0.68	-	108.22±4.13	0.129
C8-C9-H14	108.08±4.21	108.13	107.81	-	0.05	0.25	-	107.82±4.28	0.241
H14-C9-O5	106.16±4.01	110.09	109.65	-	3.70	3.29	-	110.34±3.97	3.937
C9-O5-H25	105.65±4.18	108.07	108.07	-	2.29	2.29	-	108.64±4.59	2.830
C9-C10-H17	105.27±4.27	106.63	106.67	-	1.29	1.33	-	106.18±4.26	0.864
H17-C10-C11	105.61±4.39	104.42	104.83	-	1.12	0.74	-	105.46±4.28	0.142
C11-O2-H20	106.30±4.31	105.57	105.25	-	0.69	0.99	-	106.09±4.15	0.198

\* Dif-1 Representa o desvio percentual de CPMD/fase gasosa de CCSD.

\* Dif-2 Representa o desvio percentual de CPMD/fase gasosa de PBE.

\* Dif-3 Representa o desvio percentual de CPMD/fase gasosa de raios X.

\* Dif-4 Representa o desvio percentual de CPMD/fase gasosa de CPMD/solvatado.