Universidade de São Paulo
Instituto de Física

Estudos Teóricos de Propriedades Estruturais e Eletrônicas da Molécula Emodina em Solução.

Antonio Rodrigues da Cunha

Dissertação apresentada ao Instituto de Física para a obtenção do título de Mestre em Física

Orientadora: Prof.ª Kaline Rabelo Coutinho

Banca Examinadora:

Prof.ª Dr.ª Kaline Rabelo Coutinho (IF/USP)

Prof. Dr. Munir Salomão Skaf (IQ/UNICAMP)

Prof. Dr. Luiz Carlos Gomide Freitas (IQ/UFSCar)

São Paulo, 2009

FICHA CATALOGRÁFICA
Preparada pelo Serviço de Biblioteca e Informação do Instituto de Física da Universidade de São Paulo

Antonio Rodrigues da Cunha

Estudos Teóricos de Propriedades Estruturais e Eletrônicas da Molécula Emodina em Solução.
Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo. Instituto de Física. Depto. de Física Geral. Grupo de Biofísica

Orientadora: Prof.ª Kaline Rabelo Coutinho

Área de Concentração: Física

Unitermos: 1. Física Computacional;
2. Mecânica estatística;
3. Mecânica Quântica;
4. Propriedades da Solução.

USP/IF/SBI-087/2009

"Precisamos renunciar a todas as esperanças de encontrar qualquer coisa como a teoria correta simplesmente porque nunca teremos acesso à totalidade da experiência"
H. Everett

"Sempre existirá oportunidades de abrirmos mão de nossas esperanças e com elas nossos preconceitos"
C. Contrário

Agradecimentos

Antes de mais nada, agradeço a minha orientadora, a Prof.ª Kaline Coutinho, por sua enorme dedicação no desenvolvimento deste trabalho, e por estar sempre presente com sua amizade, apoio e orientação, pelas oportunidades oferecidas, meu sincero agradecimento. Ao Prof. Sylvio Canuto e a Prof.ª Teresa Lamy pela colaboração a este trabalho.

Não tenho como expressar minha gratidão a Equipe do Laboratório de Biofísica, coordenada pela Prof.ª Teresa Lamy, pelo apoio, discussões e ajuda, em especial, T. Oliveira, C. Vequi-Suplicy e E. L. Duarte, pelo acompanhamento nas medidas espectrocópicas. Meus agradecimentos também ao Grupo de Física Molecular e Modelagem coordenado pelo Prof. Sylvio Canuto e Prof.ª Kaline Coutinho, pelo apoio, discussões e oportunidades de apresentação deste trabalho nos seus seminários. Quero agradeçer também ao Rafael Barreto pela sua contribuição com o programa Tinker.

Sem as horas de descontracão com meus amigos e colegas que juntos convivemos no DFGE do IFUSP, em especial aos amigos: M. Damasceno, T. Oliveira, C. Vequi-Suplicy, E. Duarte, R. Barroso, P. Jaramillo, H. Georg, T. Enoki, A. Barros, R. Gester, M. Hidalgo, L. Modesto, Y. Orozco, R. Barreto, C. Bistafa, F. da Silva e Evanildo, realizar este trabalho e cursar o mestrado em Física, no mínimo não teria sido tão divertido.

Minha eterna gratidão a minha família em especial, minha mãe, Irene Cunha e meu pai, Francisco Borges e aos meus irmãos que sempre estiveram ao meu lado. Ao casal Prof. Paulo Ramos e Profª. Sofia Almeida, por me incentivar nos primeiros passos em direcão ao conhecimento.

Ao CNPq, pelo apoio financeiro concedido para realização deste trabalho.

Resumo

Estudamos as propriedades estruturais e eletrônicas da molécula emodina (**EM**), em diferentes condições, do ponto de vista experimental e teórico. Numa primeira parte, realizamos medidas do espectro eletrônico de absorção da **EM**, em meio solvente (água, clorofórmio e metanol). Nessa parte, obtivemos que o solvente provoca pouco efeito nos deslocamentos das bandas. Numa segunda parte, estudamos a **EM**, isoladamente e nos três solventes, através de cálculos quânticos com funcional de densidade (B3LYP), conjunto de função base de Pople (6-31G*) e modelo contínuo polarizável (PCM). Como principais resultados obtivemos que a **EM** é rígida a menos da orientação relativa das 3 hidroxilas. A mudança orientacional nessas hidroxilas pode provocar formação de até 2 ligações de hidrogênio intramolecular (o que estabiliza sua geometria) e conseqüente uma diminuição no momento dipolo de 5.5 a 1.7D (o que desestabiliza sua interação com a água). Numa terceira parte, realizamos simulações com método Monte Carlo e Dinâmica Molecular em solução. Nessa parte, obtivemos que as ligações de hidrogênio intramoleculares são raramente quebradas devido as interações com o solvente e isso atribui a **EM** um caráter hidrofóbico. Adicionalmente, utilizando Teoria de Perturbação Termodinâmica nas simulações, calculamos a variação de energia livre de solvatação da **EM** em partição água/clorofórmio e água/-metanol e obtivemos -2.6 e -4.9 kcal/mol, respectivamente. Esse resultado está em boa concordância com o resultado experimental de -5.6 kcal/mol para partição de água/octanol. Por último, realizamos cálculos do espectro eletrônico de absorção da **EM**, isoladamente e nos três solventes, considerando as moléculas através do modelo, contínuo de solvente (SCRF) e explícito de solvente, com o método INDO/CIS. Nessa parte, obtivemos que o efeito do solvente é bem descrito teoricamente.

Abstract

We study the structural and electronic properties of the emodin (**EM**) in different solvents of experimental and theoretical the point of view. We started performing measurements of the UV-Vis absorption spectrum of the **EM** in solution (water, chloroform and methanol). Our main result is that the solvent causes little effect on shifts the bands. In the second part of this work, we performing quantum calculations of isolated **EM** and in the three solutions using density functional (B3LYP), a set of Pople basis function (6-31G*) and the polarizable continuum model (PCM). In this part, our result is that **EM** presents a rigid conformation unless the orientation of its 3 hydroxyls. The change in these hydroxyls orientation can form up to 2 intramolecular H-bonds (which stabilizes its geometry) and causes a decrease in the dipole moment from 5.5 to 1.7D (which destabilizes its interaction with water). In the third part of this work, we performing Monte Carlo and Molecular Dynamics simulations in solution. Our main result is that the intramolecular H-bonds are rarely broken, even in aqueous solution, and these give to **EM** a hydrophobic character. Additionally, using Thermodynamics Perturbation Theory in the simulations, we calculate variations of free energy of solvation of **EM** in partition of water/chloroform and water/methanol and obtained -2.6 and -4.9kcal/mol, respectively. This last result is in good agreement with the experimental result[3] of -5.6kcal/mol for partition of water/octanol. Finally, we performing calculations of UV-Vis absorption spectrum of isolated **EM** and in the three solutions. In this calculations, we considering the molecules through the continuum solvent (SCRF) and explicit solvent model with the method INDO/CIS. In this part, we obtaining that effect of solvent is well described theoretically.

Sumário

Lista de Abreviaturas **xii**

Lista de Figuras **xv**

Lista de Tabelas **xxi**

1 Introdução **23**

1.1 Levantamento bibliográfico da emodina 24

1.2 Métodos de solventes 28

1.3 Organização da dissertação 31

2 Métodos Teóricos **33**

2.1 Introdução 33

2.2 Química Quântica 33

2.2.1 A aproximação de Born-Oppenheimer(BO) 34

2.2.2 Método de Hartree-Fock 35

2.2.3 Métodos semi-empíricos 41

2.2.4 Teoria do Funcional da Densidade (DFT) 43

2.2.4.1 Aproximação de Kohn-Sham 45

2.2.5 Ajuste de cargas parciais-CHELPG 48

2.3 Simulação computacional 49

2.3.1 Dinâmica Molecular(MD) 51

2.3.2 Método Monte Carlo 55

2.3.2.1 O algoritmo 59

2.3.3 Potencial de interação molecular 60

2.3.3.1 Potencial intramolecular 60
2.3.3.2 Potencial intermolecular 63
2.3.4 Cálculo da energia livre 65

3 Resultados Experimentais 69
3.1 Introdução 69
3.2 Material utilizado 69
3.3 Preparação das soluções 70
3.4 Resultados e discussões 70

4 Resultados e Discussões 77
4.1 Introdução 77
4.2 Análise conformacional 77
4.2.1 Molécula isolada 77
4.2.2 Molécula com modelo contínuo de solvente 81
4.2.3 Molécula com modelo explícito de solvente 82
4.2.3.1 Simulação com moléculas flexíveis 89
4.2.3.2 Simulação com moléculas rígidas 97
4.2.3.3 Comparação das simulações 101
4.3 Solvatação diferencial 106
4.4 Espectro de absorção 115
4.4.1 Molécula isolada 115
4.4.2 Molécula em solução 119

5 Conclusões e Perspectivas 125

Referências Bibliográficas 129

A Aproximação de Born-Oppenheimer(BO) 145

B Arquivos de Entrada da Dinâmica Molecular da Emodina 149

Lista de Abreviaturas

SCRF	Self-consistent reaction field
DFT	Modelo contínuo polarizável
MC	Monte Carlo
MD	Dinâmica Molecular
QM	Química Quântica
MM	Mecânica Molecular
EM	Emodina
EMdp	Emodina na forma ionizada
AM1	Austin Model 1
ZINDO	Zerner's Intermediate Neglect of Differential Overlap
HF	Hartree-Fock
CIS	Configuration Interaction Singles
TD	Time-dependent
B3LYP	Funcional híbrido de *exchange* de (Becke, three-parameter, Lee-Yang-Parr)
PBE0	Funcional de DFT de Perdew, Burke e Ernzerhof
DFT	Toria dos Funcionais da Densidade

BO	Aproximação de Born-Oppenheimer
LCAO	Linear Combination of Atomic Orbitals
CNDO	Complete Neglect of Differential Overlap
NDDO	Neglect of Diatomic Differential Overlap
INDO	Intermediate Neglect of Differential Overlap
KS	Kohn-Sham
LDA	Local Density Approximation
LSDA	Local Spin Density Approximation
GGA	Generalized Gradient Approximation
B88	Gradiente de correção do funcional de *exchange* de Becke de 1988
LYP	Funcional de correlação de Lee-Yang-Parr
VWN	Funcional de correlação de Vosko-Wilk-Nusair
CHELPG	Charges from Electrostatic Potential Grid Based
LJ	Lennard-Jones
HB	Hydrogen bond
TS	Transition state
OPLS	Optimized Potentials for Liquid Simulations
CLA	Correção de Longo Alcance
PME	Particle Mesh Ewald
SPC	Simple Point Charge Model
RDF	Função de Distribuição Radial
MDDF	Função de Distribuição de Mínima Distântica
HOMO	Highest Occupied Molecular Orbital
LUMO	Lowest Unoccupied Molecular Orbital

Lista de Figuras

1.1 *Estrutura química da molécula emodina* 24

1.2 Na figura a esquerda, está ilustrado o efeito do pH no espectro de absorção da emodina($2.5\text{x}10^{-5}$ mol l^{-1}), em água-metanol(1:1). pH: 1, 2.23; 2, 5.25; 3, 6.04; 4, 6.80; 5, 8.34; 6, 9.67; 7, 10.10; 8, 10.80; e 9, 11.36. Na figura a direita, está ilustrado o efeito do pH na absorbância da emodina para diferentes comprimentos de onda intensos, ou seja, para valores de λ_{max}. A, 440; B, 496; e C, 526 nm. Essas figuras foram retiradas da referência, [22]. 26

1.3 *A direita, geometria da molécula emodina neutra (EM) e emodina desprotonada (EMdp) a esquerda o espectro eletrônico de absorção de (EM) e (EMdp). Essas figuras foram retiradas da referência [25].* 27

2.1 *Ilustração do algoritmo da Dinâmica Molecular* 53

2.2 *Ilustração dos termos do potencial de interação intramolecular mostrado na equação 2.76.* 61

2.3 *Ilustração do potencial de torção intramolecular para o ângulo diedro da molécula de n-butano. Figura retirada da referência, [109].* 62

2.4 *Ilustração da interação entre duas moléculas com dois sítios cada. O potencial entre a e b é composto pelos quatro termos; i_1j_1, i_1j_2, i_2j_1 e i_2j_2. Figura retirada da referência, [49]* 64

3.1 *Gráfico do espectro eletrônico de absorção da molécula emodina em solução metanol na forma ácida (**EM**), alcalina (**EMdp**) e neutra (**EM**+**EMdp**), na concentração de 0.1mM* 71

3.2 *Gráfico do espectro eletrônico de absorção da molécula de emodina em solução aquosa na forma ácida (**EM**), alcalina (**EMdp**) e neutra (**EM**+**EMdp**), na concentração de 0.1mM.* 71

3.3 *Gráfico do espectro eletrônico de absorção da **EM** em água, clorofórmio e metanol, na concentração de 0.1nM, normalizado pela intensidade da 1^a banda.* 74

3.4 *Gráfico do espectro eletrônico de absorção da **EMdp** em água e metanol, na concentração de 0.1nM.* 74

4.1 *Estrutura química da molécula emodina* 78

4.2 *Os rotâmeros da **EM** nas conformações estudadas.* 80

4.3 *Geometria da emodina, indicando os diedros Dh16, Dh19 e Dh21, que foram rotacionado para gerar as configurações dos rotâmeros. Nessa conformação, os valores dos diedros são: Dh16=0^o, Dh19=0^o e Dh21=180^o.* 83

4.4 *Variação das cargas nos oxigênios da emodina, referente a rotação do Dh16, mostradas nas tabelas 4.4 e 4.5.* 86

4.5 *Gráfico dos momentos os dipolo versus diedro para cada rotâmero estudado para os valores mostrados na tabela 4.6* 88

4.6 *Gráfico da energia potencial versus diedro para cada rotâmero estudado, para oconjunto de carga OPLS. Para os demais conjuntos de cargas, os resultados são semelhantes.* 89

4.7 *Gráfico da energia cinética da Dinâmica Molecular da emodina no equilíbrio para o caso com cargas OPLS. Para os demais conjuntos de cargas, os resultados são semelhantes.* 92

4.8 *Gráfico da energia potencial da MD da emodina no equilíbrio para o caso com cargas OPLS. Para os demais conjuntos de cargas, os resultados são semelhantes.* 93

4.9 *Gráfico da densidade da MD da emodina para o caso com cargas OPLS. Para os demais conjuntos de cargas, os resultados são semelhantes.* . . 93

4.10 *Gráfico do ângulo diedro Dh16 versus número de configurações para CONF esquerda e OPLS direita. Para os demais conjuntos de cargas, os resultados são semelhantes.* 94

4.11 *Histograma referente ao diedro Dh16 para o conjunto cargas CONF e OPLS. Para os demais conjuntos de cargas, os resultados são semelhantes.* 95

4.12 *Gráfico do ângulo diedro Dh21 versus número de configurações para CONF esquerda e OPLS direita. Para os demais conjuntos de cargas, os resultados são semelhantes.* 95

4.13 *Histograma referente ao diedro Dh21 para o conjunto cargas CONF e OPLS. Para os demais conjuntos de cargas, os resultados são semelhantes.* 96

4.14 *Gráfico do ângulo diedro Dh26 versus número de configurações a esquerda e histograma referente a esse diedro a direita. Ambos os gráficos para o conjunto de cargas OPLS. Para os demais conjuntos de cargas, os resultados são semelhantes.* 96

4.15 *Geometria da molécula emodina na conformação com os três diedros, Dh16, Dh19 e Dh21 em 180º.* 97

4.16 *Gráfico energia por molécula versus número de ciclos para simulação MC da* ***EM*** *no ensemble NPT no processo de termalização para o caso OPLS. Para os demais conjuntos de cargas, os resultados são semelhantes.* 99

4.17 *Gráfico energia por molécula versus número de ciclos para simulação MC da* ***EM*** *no ensemble NPT no equilíbrio térmico para o caso OPLS. Para os demais conjuntos de cargas, os resultados são semelhantes.* . . 100

4.18 *Gráfico da densidade da simulação MC da emodina para o caso com cargas OPLS. Para os demais conjuntos de cargas, os resultados são semelhantes.* 100

4.19 *Gráfico da função de distribuição radial (RDF) de pares entre o oxigênio O20 da emdina e o oxigênio da água para os métodos MD e MC, com o conjunto de cargas OPLS. Para os demais conjuntos de cargas, os resultados são semelhantes.* 105

4.20 *: Gráfico da distribuição de mínima distância (MDDF), entre a emodina e a água para o modelo de distribuição de cargas atômicas OPLS, obtido da simulação com os métodos MD e MC. Para os demais conjuntos de cargas, os resultados são semelhantes.* 106

4.21 *Ciclo Termodinâmico descrevendo o cálculo da diferença de energia livre em água e outro solvente para a molécula de emodina.* 108

4.22 *Representação do potencial dispersivo de Lennard-Jones, para o conjunto de parâmetros* $\{\epsilon = 100\%, \sigma = 100\%\}$ *e* $\{\epsilon = 0.1\%, \sigma = 100\%\}$, *para o par de átomos C-O.* 109

4.23 *Geometria da molécula emodina otimizada com B3LYP/6-31G*.* . . . 115

4.24 *Orbitais moleculares envolvidos na transição* $n - \pi^*$ *da emodina.* 117

4.25 *Orbitais moleculares envolvidos nas transições $\pi - \pi^*$ intensas da emodina.* 117

4.26 *Gráfico do espectro eletrônico de absorção da molécula emodina em clorofórmio na concentração de 0.1mM (linha sólida), com os valores dos máximos das bandas calculados com método INDO/CIS para essa molécula isolada (linha verticais tracejadas). As alturas das linhas verticais não representam a intensidade da transição calculada.* 119

Lista de Tabelas

1.1 Sumário dos valores para os máximos da 1ª banda do espectro eletrônico de absorção, encontrado na literatura para diferentes métodos, em $10^3 cm^{-1}$. Em parênteses estão mostrados os valores em nm. 27

3.1 Valores medidos para os máximos das bandas do espectro eletrônico de absorção da emodina em solução na forma ácida, alcalina (água e metanol) e neutra (água, metanol e clorofórmio), em $10^3 cm^{-1}$. Em parênteses os valores são apresentados em nm. 72

4.1 Comparação das distâncias atômicas obtidas para a geometria otimizada da emodina, neste trabalho, com nível B3LYP/6-31G* com o trabalho de Nguyen e colaboraderes [25] com nível B3LYP/6-31G(d,p). Os valores estão em $\AA$ e a numeração dos átomos está mostrada na figura 4.1. 79

4.2 Energias relativas dos rotâmeros e seus respectivos momentos de dipolo, obtidos com a otimização de geometria com método B3LYP/6-31G*. Ver os rotâmeros estudados da figura 4.2. 81

4.3 Energias relativas dos rotâmeros e seus respectivos momentos de dipolo, obtidos com método B3LYP/6-31G* e o solvente descrito com o modelo contínuo polarizável, PCM. Ver os rotâmeros estudados da figura 4.2. . 82

4.4 As cargas nos oxigênios pertencentes às hidroxilas para cada cálculo QM com método B3LYP/6-31G*/CHELPG. Ver definição dos diedros na figura 4.3. 84

4.5 As cargas nos oxigênios pertencentes aos carbonilas para cada cálculo QM com método B3LYP/6-31G*/CHELPG. Ver definição dos diedros na figura 4.3. 85

4.6 Momento de dipolo (D) para cada rotâmero obtido da rotação dos diedros. Ver definição dos diedros na figura 4.3. 85

4.7 Cargas atômicas obtidas do campo de força (OPLS), do ajuste do potencial eletrostático da geometria de mínima energia (CONF) e da média sobre os 21 rotâmeros(MÉDIA). 87

4.8 Energia total($\mathcal{E}/N$), potencial($\mathcal{U}/N$) e cinética($\mathcal{K}/N$) por molécula em $kcal/mol$, das simulações para os conjuntos de cargas CONF, MÉDIA e OPLS. 91

4.9 Temperatura(K) e densidade(g/cm^3), obtidas das simulações para os diferentes conjuntos de cargas: CONF, MÉDIA e OPLS. 91

4.10 Tempo total e percentual em que os ângulos diedros Dh16, Dh19 e Dh21 ficaram na orientação dentro do intervalo de 180° a 150°, ou seja, H16 e H19 formam ligação de hidrogênio intramolecular com O17 e para a hidroxila O20H21 aponta no sentido do O22. 94

4.11 Parâmetros Lennard-Jones da molécula emodina do campo de força OPLS [110]. 98

4.12 Dipolo da emodina e suas energias de interação com a água obtidas das simulações MD e MC. 101

4.13 Número médio e energia média por ligação de hidrogênio formadas pelas águas com as hidroxilas da emodina obtidas das simulações MC e MD. 103

4.14 Estudo da camada de solvatação da emodina em água para os métodos de simulação MC e MD, onde LH refere a camada de água que forma ligações de hidrogênio. 105

4.15 Energia livre de aniquilação em (kcal/mol) para o conjunto de cargas $\{q_i\}$, e o conjunto de parâmetros do potencial atrativo de Lennard-Jones, $\{\epsilon_i\}$, para a molécula de emodina em água, clorofórmio e metanol.110

4.16 Energia livre de aniquilação em (kcal/mol) para o conjunto de parâmetros $\{\sigma_i\}$ do potencial de Lennard-Jones, para a molécula de emodina em água, clorofórmio e metanol. 111

4.17 Sumário da energia livre de solvatação de uma molécula de emodina em água, metanol e clorofórmio nas condições normais de pressão e temperatura 112

4.18 Valores da energia livre de solvatação de uma molécula de emodina em água, metanol e clorofórmio, com o solvente descrito com o modelo contínuo polarizável (PCM). 113

4.19 Parâmetros dos solventes metanol, octanol, clorofórmio e água. Onde $E_T(30)$, corresponde um parâmetro de polaridade do solvente, segundo a molécula, *2,6-diphenyl-4-(2,4,6-triphenylpyridium-1-yl)*, ϵ, corresponde a constante dielétrica, n, o índice de refração e ρ a densidade em $g.cm^{-3}$.114

4.20 Valores calculados para os máximos das bandas no espectro eletrônico de absorção da emodina isolada, em $10^3 cm^{-1}$, calculado com INDO/CIS. Os orbitais podem ser visualizados nas figuras 4.24 e 4.25. Em parêntese estão mostrados os valores em nm. E a abreviação "f. osc" representa a força do oscilador. Na referência [25], o cálculo do espectro foi calculado com o método B3LYP/6-31g(d,p)//PCM-TD-B3LYP/6-31+G(d,p). . 116

4.21 Valores calculados para os máximos das bandas no espectro eletrônico de absorção da emodina em água em ($10^3 cm^{-1}$), calculado com INDO/-CIS(SCRF). Em parêntese estão mostrados os valores em nm. 120

4.22 Valores calculados para os máximos das bandas no espectro eletrônico de absorção da emodina em clorofórmio em ($10^3 cm^{-1}$), calculado com INDO/CIS(SCRF). Em parêntese estão mostrados os valores em nm. . 121

4.23 Valores calculados para os máximos das bandas no espectro eletrônico de absorção da emodina em metanol em ($10^3 cm^{-1}$), calculado com IN-DO/CIS(SCRF). Em parêntese estão mostrados os valores em nm. . . . 121

Capítulo 1

Introdução

Os fármacos derivados de antraquinonas[1] vêm ganhando um espaço valoroso de estudo na ciência, devidos suas atividades biológicas e farmacológicas, como digestivo [1,2], estimulante do fígado, laxante [3], antibacterial [4–6], antifungal [7], antiparasita [8], antiviral [9, 10], anti-inflamatório [11, 12], antitumoral [13–15], estimulante cardíaco [16], antiúlcera [17], diurética [18], e etc. Devido essa ampla atividade biológica e farmacológica, diversos estudos científicos vêm buscando entender como esses compostos interagem com o meio biológico. Em particular, recentemente foram analisadas as interações dessas moléculas com membranas modelos [19, 20], mostrando que essas moléculas apresentam um comportamento peculiar, aparentando estar dentro da membrana em alguns experimentos e na superfície em outros.

Neste trabalho, estudamos o fármaco emodina(1, 3, 8-*trihidroxi*-6-*metil*-9, 10-*antraquinona*), (ver figura 1.1), do ponto vista experimental, através do espectro eletrônico de absorção, e teórico, através de técnicas de cálculos quânticos e simulações computacionais para estudar as propriedades estruturais e eletrônica e suas interações com o meio solvente. A emodina(**EM**) é um produto natural e principal antraquinona do *Aloe vera*,conhecida popularmente no Brasil como babosa, que é amplamente uti-

[1]antraquinona é um composto orgânico aromático de fórmula ($C14H8O2$). Esse composto foi obtido pela primeira vez em 1827 pela hidrólise do antraceno.

lizado na indústria de produtos alimentícios, de cosmético e farmacêutica [21]. Essa molécula é formada por grupos hidrofóbicos(1 antraceno) e hidrofílicos(3 hidroxilas e 2 carbonilas), o que em princípio podem lhe atribuir um carácter hidrofílico ou lipofílico. Experimentalmente é observado que essa molécula não é solúvel em água, mas

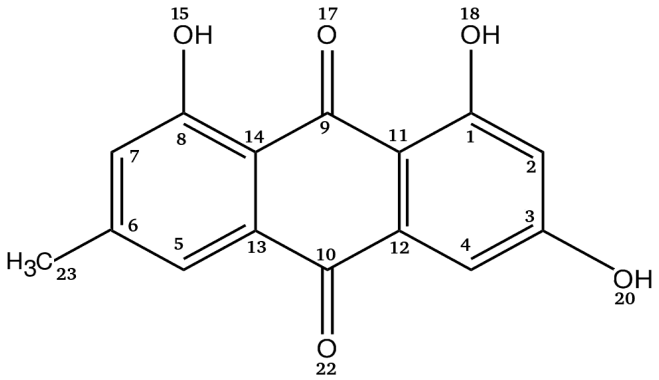

Figura 1.1: *Estrutura química da molécula emodina*

sim em solventes orgânicos, como acetonitrila, metanol e benzeno [22]. Adicionalmente a essa discussão interessante do carácter hidro/lipofílico dessa molécula, na literatura ainda existem discussões sobre processos de desprotonação e de transferência de próton (tautomerismo).

Sendo assim, o estudo teórico da emodina e suas interações com o meio passa a ser um tema de interesse. Portanto, neste trabalho realizamos um estudo teórico das propriedades estruturais e eletrônicas dessa molécula, no meio solvente (água, clorofórmio e metanol), para auxiliar a compreensão de suas interações em diferentes meios biológicos. Adicionalmente a esses estudos, realizamos também medidas do espectro eletrônico de absorção da **EM** em água, clorofórmio e metanol.

1.1 Levantamento bibliográfico da emodina

A emodina é um composto de cor amarela, com baixa solubilidade em água, $<$1 mg/mL a 19^o C [23], mas solúvel em vários solventes orgânicos, como metanol,

etanol, benzeno, tolueno, clorofórmio e tetracloreto de carbono [22]. No entanto no trabalho de Pal *et al* [22], menciona-se que, em pH alcalino essa molécula é solúvel em água, apresentando uma mudança de cor de amarelo para vermelho. Em 2004, Alves *et al* [20], mediram o coeficiente de partição[2] (K_p) da emodina em água/octanol no valor de (13.93 ± 2.24)x10^3, indicando que essa molécula apresenta uma alta afinidade por ambientes lipídicos. Numa mesma concentração molar em ambos os meios, a cada molécula encontrada na água, cerca de 13900 moléculas serão encontradas em octanol.

Adicionalmente a esses estudos, alguns trabalhos têm sido publicados na literatura, enfatizando que essa molécula pode sofrer alguns processos químicos, como desprotonação e tautomerização, provocando uma descaracterização de suas propriedades intrínsecas, como, estrutural e eletrônica. No trabalho de Wang *et al* [24], foram determinadas as constantes de dissociação $pK_{a_1} = 5.7$ e $pK_{a_2} = 7.9$, para desprotonação nas posições 3 e 8 respectivamente da molécula de emodina em acetonitrila. No trabalho de Pal *et al* [22], foi determinado o valor de pK_{a_1}, em solução água-metanol no valor de 7.2. Já no trabalho de Nguyen *et al.* [25], foi estimado o valor de pK_{a_1}, através de medidas do espectro de eletrônico de absorção da emodina em solução água-etanol, no valor de 6.24.

O trabalho de Pal *et al* [22], corrobora a hipótese de desprotonação da emodina em solução, pois foi realizado um estudo da dependência do espectro eletrônico de absorção dessa molécula com o pH da solução água-metanol, onde a emodina em $pH < 6.0$, é caracterizada por uma banda intensa na região 22.7x$10^3 cm^{-1}$(440 nm). Já em solução com o pH entre 6.0 a 7.5, essa banda sofre um deslocamento para 20.2x$10^3 cm^{-1}$(496 nm), não mudando mais a posição para mudanças no pH da solução de 7.5 a 10.0. Quando aumenta o pH da solução para 12, essa banda volta a sofrer lentamente um deslocamento para 19.0x$10^3 cm^{-1}$(526 nm). Esse comportamento está ilustrado na figura 1.2. Nessa figura a direita, está mostrado o efeito do pH na

[2] O valor (K_p), determina o grau de solubilidade diferencial de compostos químicos em dois solventes.

absorbância da emodina, onde os cruzamentos das intensidades das bandas A, B, e C está associados a primeira desprotonação da emodina na posição 3, e a segunda desprotonação na posição 8.

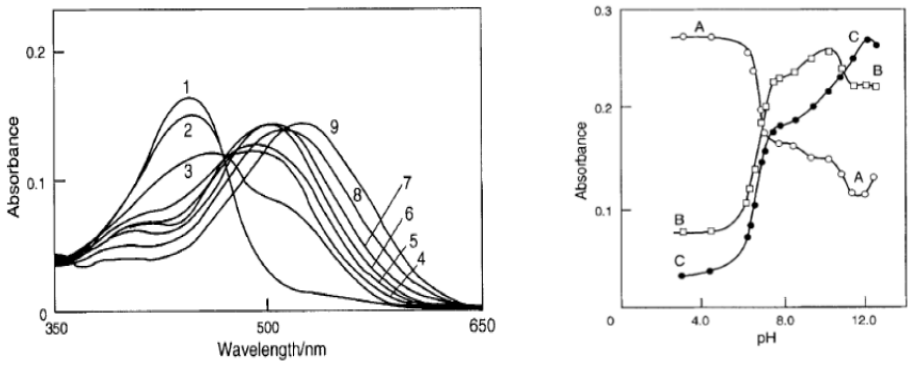

Figura 1.2: Na figura a esquerda, está ilustrado o efeito do pH no espectro de absorção da emodina($2.5\text{x}10^{-5}$ mol l^{-1}), em água-metanol(1:1). pH: 1, 2.23; 2, 5.25; 3, 6.04; 4, 6.80; 5, 8.34; 6, 9.67; 7, 10.10; 8, 10.80; e 9, 11.36. Na figura a direita, está ilustrado o efeito do pH na absorbância da emodina para diferentes comprimentos de onda intensos, ou seja, para valores de λ_{max}. A, 440; B, 496; e C, 526 nm. Essas figuras foram retiradas da referência, [22].

No trabalho de Fain *et al* [26], é levantada a hipótese de que existem erros na literatura na determinação do grau de desprotonação desses compostos, devido a não consideração de forma tautoméricas. Um exemplo é o caso da emodina, onde a banda de $19.0\text{x}10^3 cm^{-1}(526\ nm)$ deveria ser apontada para o composto tautomérico 1,10 mono-desprotonado e não a forma duplamente desprotonada.

O trabalho de Nguyen *et al.* [25], desperta a atenção ao medir o espectro eletrônico de absorção da emodina na região UV-Vis. Esse trabalho corrobora com a hipótese de desprotonação da emodina, onde indica que a emodina em solução polar, água-etanol, à temperatura ambiente, sofre processos de desprotonação, sendo que em solução ácida encontra-se a emodina neutra, **EM**, em solução alcalina encontra-se a emodina na sua forma desprotonada **EMdp**, ou seja, na forma ionizada, e em solução neutra encontra-se uma mistura de ambas as formas da emodina, **EM**+**EMdp**, ver figura 1.3. Esse trabalho está em boa concordância com o trabalho de Pal *et al* [22],

mencionado anteriormente, onde esse indica que a emodina $pH < 6.0$, apresenta a forma neutra.

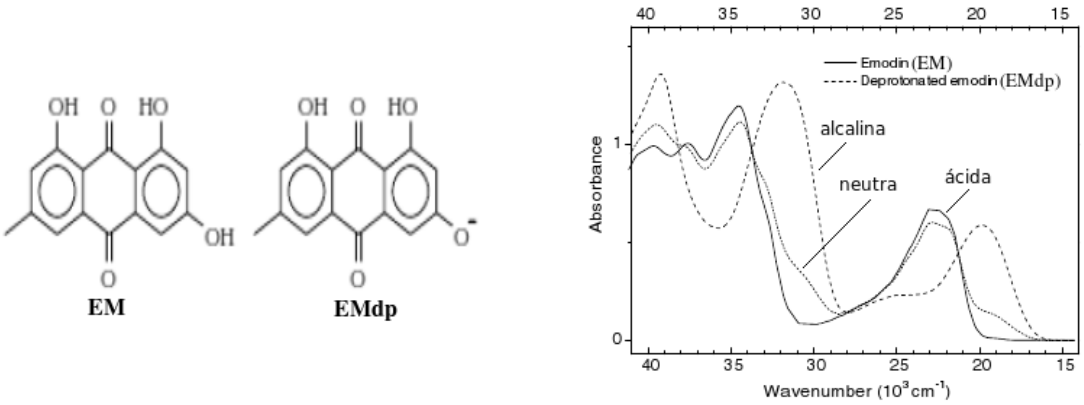

Figura 1.3: *A direita, geometria da molécula emodina neutra (EM) e emodina desprotonada (EMdp) a esquerda o espectro eletrônico de absorção de (EM) e (EMdp). Essas figuras foram retiradas da referência [25].*

Tabela 1.1: Sumário dos valores para os máximos da 1ª banda do espectro eletrônico de absorção, encontrado na literatura para diferentes métodos, em $10^3 cm^{-1}$. Em parênteses estão mostrados os valores em nm.

método	λ_{max}
AM1//ZINDO [28]	27.4(364)
HF/6-31G(d)//CIS/6-31G(d) [28]	38.0(263)
B3LYP/6-31G(d,p)//PCM-TD-B3LYP/6-31G(d,p) [28]	22.5(445)
PCM-PBE0/6-311G(d,p)//PCM-TD-PBE0/6-311G(d,p) [28]	23.1(433)
B3LYP/6-31g(d,p)//PCM-TD-B3LYP/6-31+G(d,p) [25]	22.2(450)
Exp. agua-etanol [25]	22.9(437)
Exp. polímero PVA [25]	22.5(444)
Exp. etanol [22]	22.7(440)

Do ponto de vista experimental, alguns trabalhos foram encontrados na literatura, indicando que o espectro eletrônico de absorção da emodina é caracterizado por três bandas do tipo π - π^* [25–27, 29]. Na tabela 1.1 está um sumário dos resultados encontrados na literatura para a 1ª banda do espectro eletrônico de absorção da emodina.

1.2 Métodos de solventes

Atualmente têm sido demonstrado grande interesse em estudar as interações de moléculas de interesse biológico com o meio solvente, a fim de determinar o efeito do solvente nas propriedades físicas desses moléculas. Esse interesse é gerado pela necessidade em tentar compreender como moléculas interagem com o meio solvente, uma vez que esses meios, podem mudar bastante as propriedades eletrônicas e conformacionais dessas moléculas. Um outro fator que impulsiona a sociedade científica em buscar compreender os processos moleculares em meio solvente, é o fato da maioria das reações químicas ocorrerem nesses meios [30]. Essas reações são de extrema importância nos processos biológicos e químicos, tendo uma vasta aplicação na indústria farmacêutica e cosmética, etc.

Do ponto de vista teórico, cálculos quânticos vêm sendo amplamente utilizados para analisar e determinar propriedades estruturais e eletrônicas de moléculas isoladas e em meio solvente. Atualmente, existem na literatura, dois tipos de modelos bastantes conhecidos, que incluem o solvente nesses cálculos: (i) modelos contínuos de solventes e, (ii) modelos discretos de solvente.

Nos modelos contínuos, a descrição do solvente é dada através de um meio dielétrico caracterizado por parâmetros macroscópicos, tais como a constante dielétrica ou índice de refração. Esses modelos são fundamentados nos trabalhos de Onsager [31], e de Kirkwood [32]. Na prática, o que se faz é colocar a molécula isolada numa cavi-

dade circundada por um meio dielétrico contínuo polarizável de constante dielétrica ϵ. Assim, o hamiltoniano é alterado por um termo adicional que descreve a interação da molécula com o meio contínuo, conhecido como campo de reação. Portanto ao resolver a equação de Schroedinger, é gerado um processo interativo de autoconsistência, daí o nome do modelo, Campo de Reação Autoconsistente (SCRF). Esse modelo foi introduzido na mecânica quântica por Rivail e Rinaldi [33,34], e Tapia e Goscinski [35], na década de 70 do século XX.

Assim como todo modelo físico, o SCRF apresenta pontos positivos e negativos, ao representar a interação soluto-solvente. Uma vantagem desse modelo é que ele permite um tratamento quântico da interação soluto-solvente. Uma outra vantagem é que a perturbação no soluto provocada pelo solvente, que a longas distâncias é bem representada por um meio dielétrico. Entretanto, as interações de curto alcance, como ligações de hidrogênio e forças de van der Waals, o modelo contínuo de solvente não descreve de forma adequada essas interações. Um outro problema com esse modelo, é a dependência com o forma e tamanho da cavidade em que o soluto é circundado pelo meio dielétrico. Vários trabalhos foram publicados na literatura com intenção de minimizar esses problemas [36–38]. Alguns métodos, adotam a forma da cavidade dada pela junção de esferas centradas nos átomos do soluto, gerando portanto, uma cavidade no formato do soluto. Um método que tem se destacado na literatura, que utiliza esse tipo de cavidade, é o modelo contínuo polarizável (PCM) [39].

Uma outra forma de inserir o solvente nos cálculos quânticos é através de modelos discretos de solvente. Nesses modelos, o solvente é incluído explicitamente nos cálculos. Atualmente, existem duas maneiras de abordar esses modelos, uma através de cálculos quânticos e outra através de simulações computacionais. A técnica de incluir explicitamente as moléculas de solvente nos cálculos quânticos é conhecida na literatura como aproximação de aglomerados otimizados. Nessa aproximação, os cálculos das propriedades são geralmente realizados em um aglomerado formado pela

molécula de interesse e algumas moléculas de solvente numa conformação de mínima energia.

A aproximação de aglomerados otimizados apresenta alguns pontos negativos ao representar o sistema soluto-solvente. Um desses pontos está na definição do aglomerado a ser otimizado, uma vez que esse é limitado a poucas moléculas de solvente, usualmente uma ou duas moléculas são incluídas, devido a capacidade computacional. Para aglomerados maiores que isso, o esforço computacional necessário para realização dos cálculos quânticos aumenta drasticamente. Um outro ponto está nas interações intermoleculares que não são bem descritas, pois nessa aproximação é levada em conta apenas interações de curto alcance e interações específicas, tal como, ligações de hidrogênio. Já as interações de médio e longo alcance são desprezadas. Adicionalmente, a esses dois pontos, existe um outro ponto a ressaltar, que é a validade dessa aproximação, pois essa descreve apenas aglomerados e não soluções. A aproximação de aglomerados otimizados despreza dois aspectos muito importantes de soluções: a temperatura e a natureza estatística do solvente. Sendo que, em uma solução as moléculas do solvente estão sempre em movimento e, portanto várias conformações são acessíveis ao sistema. Assim, calcular uma propriedade de interesse de um sistema solvatado sobre apenas uma estrutura de mínima energia é uma aproximação questionável. Portanto para um cálculo mais preciso de uma propriedade, essa deve ser obtida através de médias sobre inúmeras estruturas supermoleculares.

Na década de 50 do século XX, surgiu um novo método com o intuito de abordar o estudo de solvente de uma forma mais realista. Este método que permite utilizar um modelo de solvente realista é o de simulação computacional. Historicamente, esse método surgiu com a publicação dos trabalhos de Metropolis e colaboradores [40], com método Monte Carlo(MC) e de Alder e Wainwright [41, 42], com o método de Dinâmica Molecular(MD), todos publicados na década de 50 do século XX. Com o desenvolvimento dessas técnicas de simulações computacionais, tornou-se possível, tratar

de forma realista, sistemas solvatados. Nesses dois métodos, é incluido explicitamente o solvente levando em conta a natureza estatística da solução, e as interações de curto e longo alcance e interações específicas, tal como, ligações de hidrogênio.

A simulação computacional classíca é uma excelente ferramenta para estudar propriedades termodinâmicas de sistemas líquidos. Já as propriedades eletrônicas, como espectros de absorção e emissão, só é possível estudar através de métodos quânticos. Entretanto, métodos híbridos que combinam mecânica quântica(QM) e mecânica molecular(MM), conhecidos como QM/MM [43, 44], vem sendo bastante aplicado para estudar tais propriedades. Em particular, o método sequencial QM/MM [45,46], vem obtendo bons resultados quando aplicados no estudos de propriedades eletrônicas e estruturais de líquidos moleculares [47, 48]. Na prática, o que esse método faz é utilizar sequencialmente o método Monte Carlo ou Dinâmica Molecular para simulação de líquidos e cálculos quânticos para determinar as propriedades eletrônicas. Esse método, utiliza primeiramente a simulação computacional para gerar inúmeras configurações do sistema líquido. Nessas configurações, é realizado uma análise estatística, através da função autocorrelação [49, 50], com o intuito de filtrar apenas configurações supermoleculares descorrelacionadas estatisticamente, para realização de cálculos quânticos. Nesses cálculos, o solvente pode ser incluído explicitamente, o que permite um tratamento realista do efeito solvente. Nessa metodologia, as propriedades de interesse são obtidas através de médias sobre os cálculos quânticos das configurações supermoleculares.

1.3 Organização da dissertação

Este trabalho está organizado em cinco capítulos. No capítulo seguinte, mostraremos a metodologia teórica aplicada neste trabalho, onde na seção 2.2, apresentaremos os métodos de química quântica, e na seção 2.3, descreveremos os métodos de simu-

lação computacionais (Dinâmica Molecular(MD) e Monte Carlo(MC)). No capítulo 3, apresentaremos e discutiremos nossas medidas do espectro eletrônico de absorção da emodina em diferentes meios, e faremos comparações dessas medidas com resultados encontrados na literatura. No capítulo 4, mostraremos e discutiremos os resultados teóricos obtidos, através de aplicação das técnicas de cálculos quânticos e simulação computacionais para o estudo da molécula de emodina. Neste capítulo apresentaremos uma análise conformacional da molécula de emodina em fase gasosa, e em meio solvente; mostraremos o estudo da solvatação diferencial dessa molécula em água, clorofórmio e metanol; apresentaremos também os resultados do cálculo do espectro eletrônico de absorção da emodina isolada e em meio líquido, como também faremos comparações desses resultados com os resultados experimentais mostrados no capítulo 3. No capítulo 5, fecharemos este trabalho expondo nossas conclusões e perspectivas.

Capítulo 2

Métodos Teóricos

2.1 Introdução

Neste capítulo descreveremos de forma sucinta os métodos de Química Quântica e Simulação Computacional utilizados para estudar sistemas atômicos e moleculares. Iniciaremos fazendo uma introdução aos métodos aproximados de Química Quântica (Hartree-Fock e Teoria do Funcional da Densidade, ambos na aproximação de Born-Oppenheimer) para resolver a equação de Schrödinger de um sistema molecular. Depois, descreveremos os dois métodos de simulação computacional de sistemas moleculares: Dinâmica Molecular(MD) e Monte Carlo (MC).

2.2 Química Quântica

Desde a década de 20 do século XX, estudar sistemas moleculares através da Mecânica Quântica (QM), com a resolução da equação de Schrödinger para obtenção dos auto-funções e auto-energias, vem tornando-se uma atividade de grande interesse. A equação de Schrödinger para sistemas moleculares é dada por:

$$\hat{\mathbf{H}}\Psi = E\Psi, \tag{2.1}$$

onde $\hat{\mathbf{H}}$ é hamiltoniano do sistema dado por:

$$\hat{\mathbf{H}}(\mathbf{r},\mathbf{R}) = -\sum_{i=1}^{N}\frac{1}{2}\nabla_i^2 - \sum_{A=1}^{M}\frac{1}{2M_A}\nabla_A^2 - \sum_{i=1}^{N}\sum_{A=1}^{M}\frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum_{i<j}^{N}\frac{1}{r_{ij}} + \sum_{A<B}^{M}\frac{Z_A Z_B}{r_{AB}}, \quad (2.2)$$

onde $\mathbf{r} \equiv \{r_i\}$ corresponde ao vetor de posição do elétron i, $\mathbf{R} \equiv \{\mathbf{R}_A\}$ representa a posição do núcleo A e $r_{iA} \equiv |\mathbf{r}_i - \mathbf{R}_A|$ corresponde a distância entre o elétron i e o núcleo A. As constantes Z_A e M_A correspondem o número atômico e massa atômica do núcleo A. Em sistemas atômicos, a solução exata para a equação 2.1 só é factível para o átomo de hidrogênio, vem daí a necessidade de recorrer a métodos aproximados para trabalhar com sistemas multi-eletrônicos [51]. Atualmente existem na literatura diversos métodos para solucionar esses problemas. No entanto vamos nos limitar aos métodos mais importantes encontrados na literatura, Hartree-Fock(HF) e Teoria dos Funcionais da Densidade (DFT, de Density Functional Theory).

Apesar dos métodos HF e DFT terem sido desenvolvidos com os mesmos objetivos, apresentam formulações bem distintas, onde o método de HF está fundamentado na Mecânica Quântica baseado em funções de onda, desenvolvido por Hartree e Fock [52] e DFT está fundamentado na Mecânica Quântica, porém baseada na densidade eletrônica do sistema, desenvolvido em 1964 por Walter Kohn e Hoberberg [53]. Mas antes de entrar em detalhes nesses métodos, vamos fazer uma breve introdução da aproximação de Born-Oppenheimer, uma vez que Hartree e Kohn aderiram essa aproximação para o desenvolvimento de seus métodos.

2.2.1 A aproximação de Born-Oppenheimer(BO)

A aproximação de Born-Oppenheimer foi proposto nos primórdios da mecânica quântica por Born e Oppenheimer (1927) e ainda hoje é uma ferramenta indispensável em química quântica [54]. Em termos básicos, essa aproximação permite separar as auto-energias e auto-funcões em dois termos, uma correspondente a parte eletrônica e

a outra a parte nuclear,

$$\Psi_{total}(\mathbf{r},\mathbf{R}) = \chi_k(\mathbf{r};\mathbf{R})\phi_n(\mathbf{R}), \tag{2.3}$$

com as equações de movimento eletrônico e nuclear dado por:

$$\hat{H}_{elet}(\mathbf{r};\mathbf{R})\chi_k(\mathbf{r};\mathbf{R}) = \varepsilon_k\chi_k(\mathbf{r};\mathbf{R}) \tag{2.4}$$

$$\hat{H}_{núcl}(\mathbf{R})\phi_n(\mathbf{R}) = E\phi_n(\mathbf{R}), \tag{2.5}$$

onde os hamiltonianos $\hat{H}_{elet}(\mathbf{r};\mathbf{R})$ e $\hat{H}_{núcl}(\mathbf{R})$ são dados por:

$$\hat{H}_{elet}(\mathbf{r};\mathbf{R}) = -\sum_{i=1}^{N}\frac{1}{2}\nabla_i^2 - \sum_{i=1}^{N}\sum_{A=1}^{M}\frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum_{i<j}^{N}\frac{1}{r_{ij}} \tag{2.6}$$

$$\hat{H}_{núcl}(\mathbf{R}) = -\sum_{A=1}^{M}\frac{1}{2M_A}\nabla_A^2 + E_T(\mathbf{R}), \tag{2.7}$$

onde $E_T(\mathbf{R})$, corresponde o potencial para o movimento nuclear. Mais detalhes do desenvolvimento da aproximação de Born-Oppenheimer estão mostrados no apêndice A.

O sucesso dessa aproximação se deve fortemente ao fato das massas dos elétrons serem bem menores que as massas dos núcleos, permitindo que os elétrons se adaptem a qualquer arranjo dos núcleos, quase instantaneamente. A aproximação de Born-Oppenheimer é válida para a maioria dos sistemas moleculares e atômicos. No entanto, essa aproximação não é válida para casos em que existe um acoplamento significativo entre diferentes estados eletrônicos, ou seja, para estados degenerados.

2.2.2 Método de Hartree-Fock

Em 1928 Douglas Hartree propôs uma das aproximações mais importante para tratamento de sistemas moleculares a nível quântico. Essa aproximação consiste em

considerar o movimento dos elétrons independentes uns dos outros, onde a função de onda eletrônica é dada como um produto de funções de onda de um elétron,

$$\Psi(\mathbf{r}) = \phi_1(\mathbf{r}_1)\phi_2(\mathbf{r}_2)\phi_3(\mathbf{r}_2)\ldots\phi_N(\mathbf{r}_N), \tag{2.8}$$

onde $\phi_i(\mathbf{r}_i)$, são conhecidos também como spin-orbitais eletrônicos dados por:

$$\phi_i(\mathbf{r}_i) = \varphi_i(\mathbf{r}_i)\xi(\omega_i), \tag{2.9}$$

onde

$$\xi(\omega_i) = \begin{cases} \alpha(\omega_i) & \uparrow \\ \\ \beta(\omega_i) & \downarrow \end{cases}. \tag{2.10}$$

Essa aproximação é conhecida na literatura como modelo das Partículas Independentes. O problema crucial nessa aproximação está no fato de Hartree não levar em conta o princípio de antissimetria, conhecido também como o princípio de exclusão de Pauli, do qual resulta que a função de onda total de um sistema de férmions deve ser antissimétrica na troca de coordenadas espaciais e de spin para algum par de férmions idênticos.

Em 1930 Fock modificou o modelo das Partículas Independentes de Hartree, inserindo a inclusão da antissimetria através do determinante de Slater dado por:

$$\Psi(\mathbf{r}) = \frac{1}{\sqrt{N!}} \begin{vmatrix} \phi_1(\mathbf{r}_1) & \phi_2(\mathbf{r}_1) & \phi_3(\mathbf{r}_1) & \ldots & \phi_N(\mathbf{r}_1) \\ \phi_1(\mathbf{r}_2) & \phi_2(\mathbf{r}_2) & \phi_3(\mathbf{r}_2) & \ldots & \phi_N(\mathbf{r}_2) \\ \phi_1(\mathbf{r}_3) & \phi_2(\mathbf{r}_3) & \phi_3(\mathbf{r}_3) & \ldots & \phi_N(\mathbf{r}_3) \\ \vdots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \phi_1(\mathbf{r}_N) & \phi_2(\mathbf{r}_N) & \phi_3(\mathbf{r}_N) & \ldots & \phi_N(\mathbf{r}_N) \end{vmatrix}, \tag{2.11}$$

onde todos os spin-orbitais eletrônicos $\phi_i(\mathbf{r}_i)$ são ortonormais, o fator $\frac{1}{\sqrt{N!}}$ corresponde uma constante de normalização para a função de onda $\Psi(\mathbf{r})$. Esse determinante pode ser escrito na forma simplificada dado por:

$$\Psi(\mathbf{r}) = |\phi_1\phi_2\phi_3\ldots\phi_N\rangle, \tag{2.12}$$

onde o fator $\frac{1}{\sqrt{N!}}$ está implícito. O método de Hartree só passou a ser conhecido como Método de Hartree-Fock depois da introdução do princípio variacional e da antissimetria [55, 56]. Portanto as equações de Hartree-Fock são obtidas através do método variacional [57, 58], onde a energia E_0 do estado fundamental é dada através do funcional,

$$E_0 = \langle \Psi_0 | \hat{\mathbf{H}} | \Psi_0 \rangle, \tag{2.13}$$

onde $|\Psi_0\rangle$ é função de onda para o estado fundamental. Escrevendo $|\Psi_0\rangle$ na forma,

$$|\Psi_0\rangle = \frac{1}{\sqrt{N!}} \sum_{i=1}^{N!} (-1)^{\mathrm{p_i}} |\hat{\mathbf{P}}_i \phi_1(\mathbf{r}_1)\phi_2(\mathbf{r}_2)\phi_3(\mathbf{r}_2)\ldots\phi_N(\mathbf{r}_N)\rangle, \tag{2.14}$$

onde $\hat{\mathbf{P}}_i$ é o operador permutação, pode-se escrever o valor esperado do operador $\hat{\mathbf{H}}$ para o estado fundamental $|\Psi_0\rangle$ como,

$$E_0 = \sum_a^N \langle \phi_a(\mathbf{r}_1)|h(\mathbf{r}_1)|\phi_a(\mathbf{r}_1)\rangle + \frac{1}{2}\sum_a^N \sum_b^N \langle \phi_a(\mathbf{r}_1)\phi_b(\mathbf{r}_2)||\phi_a(\mathbf{r}_1)\phi_b(\mathbf{r}_2)\rangle, \tag{2.15}$$

onde $h(\mathbf{r}_1)$ corresponde ao operador hamiltoniano de um elétron dado por:

$$h(\mathbf{r}_1) = -\frac{1}{2}\nabla_1^2 - \sum_{A=1}^{M} \frac{1}{r_{iA}}. \tag{2.16}$$

O segundo termo da equação 2.15, representa o operador hamiltoniano de dois elétrons, onde o termo,

$$\langle \phi_a(\mathbf{r}_1)\phi_b(\mathbf{r}_2)||\phi_a(\mathbf{r}_1)\phi_b(\mathbf{r}_2)\rangle = \langle \phi_a(\mathbf{r}_1)\phi_b(\mathbf{r}_2)|\phi_a(\mathbf{r}_1)\phi_b(\mathbf{r}_2)\rangle - \langle \phi_a(\mathbf{r}_1)\phi_b(\mathbf{r}_2)|\phi_b(\mathbf{r}_1)\phi_a(\mathbf{r}_2)\rangle, \tag{2.17}$$

onde,

$$\langle \phi_a(\mathbf{r}_1)\phi_b(\mathbf{r}_2)|\phi_a(\mathbf{r}_1)\phi_b(\mathbf{r}_2)\rangle = \int \phi_a^*(\mathbf{r}_1)\phi_b^*(\mathbf{r}_2)\frac{1}{r_{12}}\phi_a(\mathbf{r}_1)\phi_b(\mathbf{r}_2)d^3r_1 d^3r_2. \tag{2.18}$$

Usando a condição de vínculo de que todos os spin-orbitais moleculares permaneçam ortonormais, pode-se utilizar a técnica dos multiplicadores de Lagrange [59], a

fim de minimizar o funcional,

$$\begin{aligned}\mathcal{L} &= \sum_{a}^{N}\langle\phi_a(\mathbf{r}_1)|h(\mathbf{r}_1)|\phi_a(\mathbf{r}_1)\rangle + \frac{1}{2}\sum_{a}^{N}\sum_{b}^{N}\langle\phi_a(\mathbf{r}_1)\phi_b(\mathbf{r}_2)||\phi_a(\mathbf{r}_1)\phi_b(\mathbf{r}_2)\rangle \\ &- \sum_{a}^{N}\sum_{b}^{N}\epsilon_{ab}\left(\langle\phi_a(\mathbf{r}_1)|\phi_b(\mathbf{r}_2)\rangle - \delta_{ab}\right), \end{aligned} \tag{2.19}$$

onde os coeficientes ϵ_{ab} são os multiplicadores de Lagrange. Impondo que o funcional $\mathcal{L}$ seja real, mostra-se que a matriz formada pelos ϵ_{ab} é hermitiana,

$$\epsilon_{ab}^{*} = \epsilon_{ba}. \tag{2.20}$$

Se cada um dos spin-orbitais sofrer uma pequena variação $\delta\phi$, o funcional $\mathcal{L}$ sofrerá uma variação dada por:

$$\delta\mathcal{L} = \sum_{a}^{N}\langle\delta\phi_a(\mathbf{r}_1)|\left\{\left[h(\mathbf{r}_1) + \sum_{b}^{N}[\mathcal{J}_b(\mathbf{r}_1) - \mathcal{K}_b(\mathbf{r}_1)]\right]|\phi_a(\mathbf{r}_1)\rangle - \sum_{b}^{N}\epsilon_{ab}|\phi_b(\mathbf{r}_1)\rangle\right\} + cc, \tag{2.21}$$

onde o termo *cc* corresponde ao complexo conjugado e $\mathcal{J}_b(\mathbf{r}_1)$ e $\mathcal{K}_b(\mathbf{r}_1)$ são os operadores de Coulomb e de troca respectivamente e estão definidos através das expressões,

$$\mathcal{J}_b(\mathbf{r}_1)\phi_a(\mathbf{r}_1) = \left\{\int \phi_b^{*}(\mathbf{r}_2)\frac{1}{r_{12}}\phi_b(\mathbf{r}_2)d^3r_2\right\}\phi_a(\mathbf{r}_1) \tag{2.22}$$

$$\mathcal{K}_b(\mathbf{r}_1)\phi_a(\mathbf{r}_1) = \left\{\int \phi_b^{*}(\mathbf{r}_2)\frac{1}{r_{12}}\phi_a(\mathbf{r}_2)d^3r_2\right\}\phi_b(\mathbf{r}_1), \tag{2.23}$$

Impondo que $\delta\mathcal{L} = 0$, ou seja, que o funcional $\mathcal{L}$ seja um mínimo, obtem-se o operador de Fock $\mathcal{F}(\mathbf{r}_1)$,

$$\mathcal{F}(\mathbf{r}_1)\phi_a(\mathbf{r}_1) = \sum_{b}^{N}\epsilon_{ab}\phi_b(\mathbf{r}_1), \tag{2.24}$$

onde $\mathcal{F}(\mathbf{r}_1)$ é dado por:

$$\mathcal{F}(\mathbf{r}_1) = h(\mathbf{r}_1) + \sum_{b}\left[\mathcal{J}_b(\mathbf{r}_1) - \mathcal{K}_b(\mathbf{r}_1)\right]. \tag{2.25}$$

Mostra-se que a soma dos operadores $\mathcal{J}_b(\mathbf{r}_1)$ e $\mathcal{K}_b(\mathbf{r}_1)$, e conseqüentemente, $\mathcal{L}$ são invariantes sob a fransformação unitária dada por:

$$\phi'_a(\mathbf{r}_1) = \sum_c \phi_c(\mathbf{r}_1)\mathcal{U}_{ca}, \tag{2.26}$$

onde $\mathcal{U}_{ca}$ é um elemento de uma matriz unitária $\mathcal{U}$. Usando a equação 2.26, é possível diagonalizar a matriz formada pelos elementos ϵ_{ab}, para obter um conjunto de spin-orbitais que são os autovetores do operador de Fock e os autovalores ϵ_a que são as energias associadas aos orbitais moleculares. Portanto a equação 2.24, pode ser escrita da forma,

$$\mathcal{F}(\mathbf{r}_1)\phi_a(\mathbf{r}_1) = \epsilon_a\phi_a(\mathbf{r}_1), \tag{2.27}$$

conhecida na literatura como equação canônica de Hartree-Fock. Usando a equação 2.25 e 2.27, pode-se obter os autovalores ϵ_a dados por:

$$\epsilon_a = \langle\phi_a(\mathbf{r}_1)|h(\mathbf{r}_1)|\phi_a(\mathbf{r}_1)\rangle + \sum_b^N \langle\phi_a(\mathbf{r}_1)\phi_b(\mathbf{r}_2)||\phi_a(\mathbf{r}_1)\phi_b(\mathbf{r}_2)\rangle. \tag{2.28}$$

Usando a equação 2.15, mostra-se que,

$$E_0 = \sum_a^N \epsilon_a - \frac{1}{2}\sum_a^N\sum_b^N \langle\phi_a(\mathbf{r}_1)\phi_b(\mathbf{r}_2)||\phi_a(\mathbf{r}_1)\phi_b(\mathbf{r}_2)\rangle. \tag{2.29}$$

Como o operador de Fock $\mathcal{F}(\mathbf{r}_1)$ depende dos operadores de Coulomb $\mathcal{J}_b(\mathbf{r}_1)$ e de troca $\mathcal{K}_b(\mathbf{r}_1)$, e esses dependem das soluções da equação dos spin-orbitais. Portanto, a equação de Hartree-Fock deve ser resolvida iterativamente, ou seja, de forma acoplada através de aproximações sucessivas [55,56]. Vem dai o nome do processo utilizado para resolver a equação de Hartree-Fock, que é chamado de método do Campo Autoconsistente(SCF).

A solução numérica da equação de Hartree-Fock só é factível para sistemas atômicos ou moleculares com poucos elétrons, porém para sistemas maiores é recomendável recorrer a métodos proposto por Slater [60] e posteriormente formalizado por Roothaan [61]. Esse método é conhecido na literatura como **LCAO**, que tem como

essência a expansão dos orbitais moleculares em termos de um conjunto de funções-base conhecidas. Então, escrevendo os orbitais moleculares como,

$$\phi_i(\mathbf{r}) = \sum_{\mu}^{k} C_{\mu p} g_\mu(\mathbf{r}), \tag{2.30}$$

onde k é o número de funções do conjunto, $C_{\mu p}$'s são os coeficientes da expansão, e $g_\mu(\mathbf{r})$ são as funções-bases. Em sistemas moleculares as funções-base mais utilizadas são as funções tipo gaussianas, devido a facilidade em resolver numericamente integrais dessas funções. Substituindo a equação 2.30 na equação de Hartree-Fock, obtem-se,

$$\mathbf{FC} = \mathbf{SC}\epsilon. \tag{2.31}$$

Esta é uma equação matricial, conhecida na literatura como a equação de Hartree-Fock-Roothaan. A matriz de Fock $\mathbf{F}$ e a matriz de overlap $\mathbf{S}$ são dadas por

$$F_{\mu\nu} = \int \phi_\mu^*(\mathbf{r_1}) \mathcal{F}(\mathbf{r}_1) \phi_\nu(\mathbf{r_1}) d^3 r_1 \tag{2.32}$$

$$S_{\mu\nu} = \int \phi_\mu^*(\mathbf{r_1}) \phi_\nu(\mathbf{r_1}) d^3 r_1. \tag{2.33}$$

Os elementos da matriz $\mathbf{C}$ são dados pela equação 2.30 e os elementos da matriz ϵ, que é uma matriz diagonal que contém as energias orbitais são dados por: $\epsilon_{pq} = \epsilon_p \delta_{pq}$.

A equação de Hartree-Fock-Roothaan deve ser resolvida de forma autoconsistente, uma vez que a matriz $\mathbf{F}$ depende da matriz $\mathbf{C}$. Um outro fato importante a mencionar é que o conjunto de funções-base geralmente não é ortogonal como conseqüência a matriz $\mathbf{S}$ não é diagonal. No entanto a matriz $\mathbf{S}$ é hermitiana, podendo ser diagonalizada por uma matriz unitária $\mathbf{U}$. Realizando uma transformada unitária na matriz de Fock $\mathbf{F}$, a equação Hartree-Fock-Roothaan pode ser escrita na sua forma matricial canônica. Essa nova equação pode ser resolvida com mais facilidade, apenas ortogonalizando-se a nova matriz de Fock.

A precisão dos resultados de um calculo com nível Hartree-Fock, depende da escolha do conjunto de funções-base. Esse conjunto de funções-base deve ser completo,

ou seja, deve possuir um número grande de funções para obter o limite da energia eletrônica ou solução de HF, o que se torna esse cálculo impossível de ser realizado computacionalmente. Na prática, o que se faz é escolher um conjunto de funções-base finito, o que torna a energia eletrônica variacional, quanto melhor for esse conjunto, mas precisos serão os resultados, até que se atinja o limite de Hartree Forck.

Pelo princípio variacional, o valor limite da energia de Hartree-Fock (E_{HF}) está acima da energia exata (E_{exata}) (não-relativística), dentro da aproximação de Aproximação de Born-Oppenheimer. Portanto, define-se como energia de correlação eletrônica (E_{corr}) a diferença entre a energia exata e energia de Hartree-Fock [56, 58].

$$E_{corr} = E_{exata} - E_{HF}. \tag{2.34}$$

Apesar da energia de correlação ser geralmente pequena em comparação a energia de Hartree-Fock, ela é essencial para a descriação de processos eletrônicos. Devido a isso, vários métodos tem sido desenvolvidos com o objetivo incluir a energia de correlação eletrônica. Dentro desses métodos estão, o método de interação de configurações (CI) [55], o de campo autoconsistente de multireferencial [56], os métodos perturbativos [57] e método do funcional da densidade que será apresentado neste capítulo.

2.2.3 Métodos semi-empíricos

Os métodos semi-empíricos surgiram da necessidade em reduzir o custo computacional, de cálculos que utilizam as equações de Hartree-Fock, para tratamento de sistema moleculares contendo uma grande quantidade de átomos [56]. Uma vez que o custo computacional em se realizar um cálculo de Hartree-Fock é da ordem de K^4, onde K corresponde ao número de funcões-base [55, 62].

Todos os métodos semi-empíricos, buscam resolver, de forma autoconsistente, aproximações às equações de Hartree-Fock-Roothaan, utilizando parâmetros obtidos por ajuste numérico, ou baseado em dados experimentais. Esses métodos consideram

apenas os elétrons de valência, os demais são considerado através do efeito de redução da carga nuclear efetiva que provocam [62]. Esses métodos utilizam um conjunto de base mínima para representar os elétrons de valência, onde geralmente essa base é formado por funções do tipo Slater

Uma aproximação comum entre os métodos semi-empíricos é a aproximação ZDO (Zero Differential Overlap) [63]. Essa aproximação considera nulo todos os produtos entre dois orbitais atômicos diferentes, o que simplifica bastante as equações de Hartree-Fock-Roothaan, implicando que a matriz de *overlap* $\hat{\mathbf{S}}$, se torne uma matriz identidade. E como vantagem, a equação de autovalores de Hartree-Fock-Roothaan pode ser simplificada e resolvida a partir de uma diagonalização da matriz de Fock.

A grande limitação dos métodos semi-empíricos estava ligado ao fato desses métodos serem restritos ao tratamento de sistemas com moléculas planas considerando apenas os elétrons π [64]. Para superar essas limitações, Pople e colaboradores publicaram uma série de trabalhos [65–68], onde desenvolveram propostas como, os métodos CNDO (*Complete Neglect of Differential Overlap*), NDDO (*Neglect of Diatomic Differential Overlap*) e INDO (*Intermediate Neglect of Differential Overlap*).

Dentre as três aproximações propostas por Pople, a NDDO é citada na literatura como a melhor das três, devido ao fato dessa aproximação considerar um números maior de integrais a serem calculadas [56,62]. Nessa aproximação, todas as integrais de repulsão eletrônica, para os orbitais centrados em núcleos diferentes são considerados nulas. Assim, as integrais com os orbitais sobre o mesmo núcleo são consideradas diferente de zero, ou seja,

$$\langle \phi_A \phi_B | \phi_A \phi_B \rangle \neq 0. \tag{2.35}$$

Na aproximação CNDO, considera desprezível todas as integrais de repulsão eletrônica que possuam produtos envolvendo orbitais diferentes [65,66], sobrando apenas

integrais monoatômicas do tipo Coulomb, $\langle\phi_a\phi_a|\phi_b\phi_b\rangle$. A grande desvantagem dessa aproximação é a não inclusão de integrais de *exchange* de um centro. Como conseqüência, essa aproximação é incapaz de distinguir estados provenientes de uma mesma configuração eletrônica. Esses problemas não aparecem na aproximação NDDO, no entanto essa aproximação exige um cálculo de um número muito grande de integrais de dois centros. A solução para esses problemas veio com a aproximação INDO, onde essa, inclui integrais de *exchange*, tipo $\langle\phi_a\phi_b|\phi_a\phi_b\rangle$, considerando apenas as integrais de um centro [68].

Depois dos trabalhos de Pople [65–68], várias propostas de parametrização desses métodos surgiram na literatura [69–72]. Uma parametrização importante para o nosso trabalho é a parametrização espectrocópica desenvolvida por Del Bene e Jaffe [73], para o CNDO, que mais tarde, Zerner e colaboradores implementaram essa parametrização no método INDO [68], e produziram o programa ZINDO [74], utilizado neste trabalho. Essa parametrização é conhecida na literatura como INDO/S, recomendável para o tratamento de transições eletrônicas.

2.2.4 Teoria do Funcional da Densidade (DFT)

Uma forma de estudar sistema de muitos elétrons incluindo a energia de correlação eletrônica é através da Teoria do Funcional da Densidade(DFT). Modelos como o Drude-Sommerfeld [75] e Thomas-Fermi [76] serviram como pontos de partidas para o desenvolvimento da Teoria do Funcional da Densidade por Hohenberg e Kohn em 1964 [53]. Essa teoria está fundamentada em dois teoremas, que usa a densidade eletrônica $\rho(\mathbf{r})$ como variável fundamental , em vez da função de onda total $\Psi(\mathbf{r})$, como na teoria de Hartree-Fock(HF). Esses dois teoremas asseguram que existe um funcional de energia exato da densidade eletrônica $E[\rho]$ e um princípio variacional exato para este funcional [56, 77].

No trabalho de Hohenberg e Kohn [53] eles consideraram o mesmo sistema des-

crito pelo hamiltoniano da equação 2.2, com M núcleos e N elétrons dentro da aproximação de Born-Oppenheimer, desprezando-se os efeitos relativísticos, pode-se escrever o hamiltoniano como,

$$\hat{\mathbf{H}} = \hat{\mathbf{T}} + \hat{\mathbf{U}} + \hat{\mathbf{V}}, \tag{2.36}$$

onde $\hat{\mathbf{T}}$ é o operador de energia cinética dos elétrons, $\hat{\mathbf{U}}$ o operador de repulsão elétron-elétron e $\hat{\mathbf{V}}$, o operador correspondente ao potencial externo sentido pelos elétrons, que normalmente devido às cargas dos núcleos Z_A. Usando a definição de densidade eletrônica [51], é factível mostrar que a energia total do sistema é dada por,

$$E = \langle \Psi | \hat{\mathbf{T}} + \hat{\mathbf{U}} + \hat{\mathbf{V}} | \Psi \rangle \equiv T[\rho] + U[\rho] + V[\rho], \tag{2.37}$$

onde cada funcional corresponde a

$$\hat{\mathbf{V}} \equiv \int \upsilon(\mathbf{r}) \Psi^*(\mathbf{r}) \Psi(\mathbf{r}) d^3r = \int \upsilon(\mathbf{r}) \rho(\mathbf{r}) d^3r \tag{2.38}$$

$$\begin{aligned} \hat{\mathbf{U}} \approx \hat{\mathbf{U}}_H &\equiv \frac{1}{2} \int \int \frac{1}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \Psi^*(\mathbf{r}) \Psi^*(\mathbf{r}') \Psi(\mathbf{r}) \Psi(\mathbf{r}') d^3r d^3r' \\ &= \frac{1}{2} \int \int \frac{1}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \rho(\mathbf{r}) \rho(\mathbf{r}') d^3r d^3r' \end{aligned} \tag{2.39}$$

$$\hat{\mathbf{T}} \equiv \frac{1}{2} \int \nabla \Psi^*(\mathbf{r}) \nabla \Psi(\mathbf{r}) d^3r. \tag{2.40}$$

Torna-se evidente que a expressão para o funcional $V[\rho]$ (ver equação 2.38) é única ou seja exata além de uma constante aditiva. Já o funcional $U[\rho]$ correspondente a repulsão elétron-elétron é dado por uma aproximação da interação clássica entre as densidades eletrônicas, (ver equação 2.39). Essa expressão na literatura é conhecida como a energia de interação de Hartree. As principais implicações em escrever essa expressão dessa forma é que os elétrons podem interagir com eles mesmos e a interação de *exchange* é excluída, ou seja, desconsidera o principio da antissimetria. A correção energética devido a não interação de *exchange* é dada por

$$E_{xc}[\rho] = E[\rho] - (U_H[\rho] + T_0[\rho]), \tag{2.41}$$

onde $E_{xc}[\rho]$ é um funcional da densidade $[\rho]$, onde nesse funcional, já está incluso a parte que contém a correção da energia cinética.

Uma aproximação de imediato para o funcional $T[\rho]$ da energia cinética de um sistema de elétrons é considerar $T[\rho] \approx T_0[\rho]$, onde esses elétrons não interagem entre se, desprezando portanto o termo de interação de *exchange*. Uma proposta para essa aproximação foi dada em 1920 por Thomas e fermi [55].

Devido a dificuldade em incluir a correlação eletrônica e interação de *exchange* nos funcionais $U[\rho]$ e $T[\rho]$, desenvolver esses funcionais de modo a incluir os efeitos da correlação eletrônica e interação de *exchange*, tem sido um grande desafio da DFT, desde a sua formulação. Em 1965, Kohn e Sham [78] foram os primeiros a apresentar um posposta de atacar esse problema.

2.2.4.1 Aproximação de Kohn-Sham

Escrevendo a equação 2.37 para o funcional da energia total do sistema em termos da densidade eletrônica como,

$$E[\rho] = F[\rho] + \langle \Psi | \hat{\mathbf{V}} | \Psi \rangle, \tag{2.42}$$

onde definiu-se $F[\rho]$ como um funcional universal válido para qualquer sistema coulombiano, dado por

$$F[\rho] = \langle \Psi | \hat{\mathbf{T}} + \hat{\mathbf{U}} | \Psi \rangle = \frac{1}{2} \int \int \frac{1}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \rho(\mathbf{r}) \rho(\mathbf{r}') d^3r d^3r' + G[\rho], \tag{2.43}$$

onde $G[\rho]$ também é um funcional universal. Esse funcional pode ser escrito da seguinte forma,

$$G[\rho] \equiv T_0[\rho] + E_{xc}[\rho]. \tag{2.44}$$

onde a expressão exata para o funcional $E_{xc}[\rho]$ não é facil obter, entretanto pode-se obter através de aproximações. Usando a equação 2.42, 2.43 e 2.44, pode-se escrever

o funcional da energia como,

$$E[\rho] = \int \upsilon(\mathbf{r})\rho(\mathbf{r})d^3r + \frac{1}{2}\int\int \frac{1}{|\mathbf{r}-\mathbf{r}'|}\rho(\mathbf{r})\rho(\mathbf{r}')d^3rd^3r' + T_0[\rho] + \int \rho(\mathbf{r})E_{xc}[\rho(\mathbf{r})], \tag{2.45}$$

Usando a condição de vínculo em que a carga eletrônica total seja fixa, ou seja,

$$\int \rho(\mathbf{r})d^3r = N, \tag{2.46}$$

onde N é número de elétrons e escrevendo o funcional $T_0[\rho]$ em termos de orbitais $\phi_i(\mathbf{r})$ de um sistema de elétrons não interagentes de densidade ρ,

$$T_0[\rho] = -\frac{1}{2}\sum_i \int \phi_i^*(\mathbf{r})\nabla^2\phi_i(\mathbf{r})d^3r, \tag{2.47}$$

pode fazer uso do teorema variacional [59], a fim de minimizar o funcional de energia $E[\rho]$, sujeito a equação de vínculo 2.46. Esse mesmo processo foi realizado para obber a equação de Hartree-Fock, portanto realizando esse esquema, obtem-se a equação de Konh-Sham dada por

$$h^{KS}\phi_i(\mathbf{r}) = \epsilon_i\phi_i(\mathbf{r}), \tag{2.48}$$

onde h^{KS} é o operador de Kohn-Sham de uma partícula, onde ele é dado por,

$$h^{KS} = -\frac{1}{2}\nabla^2 + \upsilon^{KS}[\rho], \tag{2.49}$$

onde $\upsilon^{KS}[\rho]$ é definido como o potencial efetivo de Kohn-Sham dado por,

$$\upsilon^{KS}[\rho] = \upsilon(\mathbf{r}) + \int \frac{1}{|\mathbf{r}-\mathbf{r}'|}\rho(\mathbf{r}')d^3r' + \upsilon_{xc}(\rho). \tag{2.50}$$

Assim como no método Hartree-Fock, a solução da equação de Kohn-Sham deve ser obtida através de um cálculo autoconcistente e a qualidade dos resultados depende fortemente da escolha do funcional de *exchange*-correlação, $E_{xc}[\rho]$. Na literatura existem várias propostas baseadas em aproximações para esse funcional, entre elas, estão as com aproximação de densidade local: LDA (Local Density Approximation) [79], LSDA (Local Spin Density Approximation) [80, 81]. Nessas aproximações, a energia

de *exchange*-correlação para um sistema eletrônico homogêneo de densidade $\rho(\mathbf{r})$, no ponto $\mathbf{r}$ é assumida igual à energia de *exchange*-correlação de um sistema eletrônico homogêneo de mesma densidade.

Considerar a densidade eletrônica homogênea não é uma boa aproximação para estudar sistemas moleculares, portanto a LDA falha nesse aspecto. Um melhoramento na aproximação LDA é a GGA(Generalized Gradient Approximation) [82, 83], onde nessa aproximação, escreve o funcional $E_{xc}[\rho]$ em termos do gradiente da densidade de carga total.

Além das aproximações LDA, LSDA e GGA, existem na literatura várias outras propostas para o funcional $E_{xc}[\rho]$ [84–86]. Atualmente os funcionais híbridos são os que mais se destacam na Teoria do Funcional da Densidade [79, 87–89]. A principal característica desses funcionais é que misturam uma fração de *exchange* de Hartree-Fock no funcional de *exchange* do DFT. Esse procedimento é semelhante ao utilizado na obtenção dos métodos semi-empíricos, onde a formulação do funcional $E_{xc}[\rho]$ é baseado em dados experimentais de sistemas moleculares bem conhecidos. Um exemplo desse tipo de funcional é o **B3LYP** (Becke, three-parameter, Lee-Yang-Parr) [90, 91]. No B3LYP, o funcional de *exchange*-correção E_{xc} é escrito da seguinte forma

$$E_{xc}^{B3LYP} = (1 - a_0)E_x^{LSDA} + a_0 E_x^{HF} + a_x \Delta E_x^{B88} + a_c E_c^{LYP} + (1 - a_c)E_c^{VWN}, \quad (2.51)$$

onde os termos ΔE_x^{B88}, corresponde ao gradiente de correção do funcional de *exchange* de Becke de 1988 [79]. E_c^{LYP} e E_c^{VWN}, correspondem ao funcional de correlação de Lee-Yang-Parr [88], Vosko-Wilk-Nusair [92] respectivamente. Os coeficientes $a_0 = 0.20$, $a_x = 0.72$ e $a_c = 0.81$, são os três parâmetros empíricos sugerido em 1993 por Becke [81], baseado em análise de propriedades Termodinâmicas obtidas experimentalmente de pequenas moléculas.

Atualmente na literatura existe uma gama de proposta de funcionais $E_{xc}[\rho]$. O

estudo desses funcionais é um campo da Química Quântica em aberto, bastante ativo e propício a receber contribuições que venha melhorar a precisão do método DFT. O sucesso desse método se deve a eficiência à inclusão da correlação eletrônica na implementação computacional, o que possibilita uma descrição de sistemas moleculares mais complexos com uma boa precisão.

2.2.5 Ajuste de cargas parciais-CHELPG

Um cuidado importante que se deve tomar na realização de uma simulação de líquidos moleculares é representar bem as propriedades eletrostáticas. Existem na literatura várias formas de representar essas propriedades para sistemas moleculares [93–96]. Uma forma simples é através do potencial gerado por cargas parciais centradas nos átomos da molécula. Essa técnica é conhecida na literatura como análise populacional de Mulliken [93]. O problema dessa técnica está em tomar os valores médios das cargas sobre os átomos, uma vez que esses valores são tomados sobre os orbitais atômicos. Como conseqüência os valores médios das cargas são dependentes da escolha do conjunto de funções-base.

Devido à necessidade em representar adequadamente o potencial eletrostático, várias técnicas foram propostas a fim de representar a densidade de carga molecular por um conjunto de cargas parciais. Um método que tem se destacado nessa área é o CHELPG(*Charges from Electrostatic Potential Grid based*, desenvolvido por Breneman e Wiberg no final da década de 80 [97]. O procedimento para obtenção das cargas parciais nesse método é dado por: (i) Defini-se uma grade retangular em torno da molécula e uma função de onda apropriada. (ii) Obtém-se o potencial eletrostático para cada átomo dentro dessa grade. (iii) Ajustam-se cargas parciais nas posições dos núcleos atômicos de modo a reproduzir o potencial eletrostático, de forma que a carga total tem que ser igual a carga efetiva da molécula que gerou o potencial.

Um conjunto de cargas parciais obtido do procedimento CHELPG, tem conse-

guido reproduzir adequadamente as propriedades eletrostáticas de sistemas moleculares, em particular em sistemas líquidos [98] . Atualmente na literatura, existem vários resultados satisfatórios da obtenção das cargas através do método CHELPG para realização de uma simulação molecular [99–103]. Neste trabalho, utilizamos esse método para gerar as cargas parciais que utilizamos na realização das simulações computacionais.

2.3 Simulação computacional

Atualmente, uma ferramenta poderosa para estudar sistemas moleculares é a simulação computacional. Essa ferramenta permite-nos estudar propriedades fundamentais de sistemas moleculares. Apesar de que nem todas propriedades podem ser obtidas diretamente via simulação, podemos obter propriedades através de simulação de difícil acesso experimental [49,104]. Um exemplo típico: a simulação computacional de um líquido, onde podemos obter todas as posições e velocidades instantâneas de todas as moléculas no líquido. No entanto, o experimental é capaz de fornecer uma propriedade média desse sistema, medida sobre uma grande quantidade de moléculas, ou sobre um tempo prolongado. Na simulação computacional essas médias são realizadas baseadas nos princípios da mecânica estatística, sendo portanto possível obter propriedades macroscópicas, como pressão e energia interna, a partir de informações microscópicas.

Assim, para realizar uma simulação computacional é necessário escolher o tipo de média que deseja realizar sobre o sistema. Pode-se realizar uma média sobre as configurações do sistema, conhecida também como uma média sobre o *ensemble*, ou uma média temporal, realizada sobre uma série de medidas durante um certo intervalo de tempo. Numa simulação computacional de líquidos, onde o sistema é representado por N átomos, ou moléculas, descrito pelo um hamiltoniano $\mathcal{H}$, o valor médio de uma

propriedade $\mathcal{A}$ sobre o *ensemble* é dada por:

$$\langle \mathcal{A} \rangle_{NPT} = \frac{\int_V \int_{\mathbf{p}^N} \int_{\mathbf{r}^N} \mathcal{A}(\mathbf{p}^N, \mathbf{r}^N) exp\{-\beta(\mathcal{H} + pV)\} dV d\mathbf{p}^N d\mathbf{r}^N}{\int_V \int_{\mathbf{p}^N} \int_{\mathbf{r}^N} exp\{-\beta(\mathcal{H} + pV)\} dV d\mathbf{p}^N d\mathbf{r}^N}, \tag{2.52}$$

onde a média é realizada no *ensemble* NPT, conhecido também como *ensemble das pressões*. O valor médio dessa propriedade $\mathcal{A}$ na posição r, pode ser também obtido através de uma média temporal dada por:

$$\bar{\mathcal{A}} = \lim_{t \to \infty} \frac{1}{t} \int_0^t dt' \mathcal{A}(r;t'), \tag{2.53}$$

onde a propriedade $\mathcal{A}(r;t)$ pode ser obtida, através das equações de Newton, a partir de uma configuração inicial do sistema, dado pelas posições e momentos iniciais, $\mathbf{r}(\mathbf{0})^N$ e $\mathbf{p}(\mathbf{0})^N$ de todas as moléculas. Na equação 2.53, foi assumido implicitamente que, para tempo suficientemente longo, a média temporal não depende da condição inicial. Uma vez especificado o N, P e T, e assumido que a média temporal não depende das posições e momentos iniciais, então o valor $\bar{\mathcal{A}}$ não mudará se realizar uma média sobre o conjunto formado por diferentes condições iniciais do sistema, ou seja,

$$\bar{\mathcal{A}} = \frac{1}{N_c} \sum_{c_i} \left(\lim_{t \to \infty} \frac{1}{t} \int_0^t dt' \mathcal{A}(r; \mathbf{r}(\mathbf{0})^N, \mathbf{p}(\mathbf{0})^N; t') \right), \tag{2.54}$$

onde N_c é o número de condições iniciais e c_i corresponde a condição inicial.

No caso limite, a média sobre todas as condições inicial compatível com os valores impostos de N, P e T, pode ser escrita, substituindo a soma sobre c_i por uma integral, no espaço de configurações, ou melhor, no espaço de fase, formado pelas coordenadas do sistema $\mathbf{r}^N$ e $\mathbf{p}^N$. Portanto a equação 2.54, pode ser escrita da seguinte forma:

$$\bar{\mathcal{A}} = \lim_{t \to \infty} \frac{1}{t} \int dt' \langle \mathcal{A}(r; \mathbf{r}(\mathbf{0})^N, \mathbf{p}(\mathbf{0})^N; t') \rangle_{NPT}, \tag{2.55}$$

como a média sobre o *ensemble* não depende do tempo t', portanto a média sobre todas as condições iniciais no espaço de fase é equivalente à média temporal, ou seja,

$$\bar{\mathcal{A}} = \langle \mathcal{A} \rangle_{NPT}. \tag{2.56}$$

A equação 2.56 diz que, se desejarmos calcular a média de uma propriedade sobre um sistema de muitas partículas, essa média pode ser calculada através de duas metodologias diferentes: pode ser calculada através de uma média temporal, usando simulação de Dinâmica Molecular(MD), ou pode também ser obtida através de uma média sobre o *ensemble*, através de simulação Monte Carlo(MC). A equivalência entre os resultados obtidos dessas duas metodologias só ocorre para tempos longos, ou melhor, para simulações "infinitamente" longas, quando todo o espaço de configurações é visitado, ou seja, todas as configurações acessíveis pertencentes ao espaço de configurações são geradas pela simulação.

Apesar da equivalência entre os resultados obtidos dos métodos, Dinâmica Molecular e Monte Carlo, em estudos de sistemas moleculares, esses dois métodos são bem distintos. Sendo que a principal diferença entre eles é que, a MD é um método determinístico, apresenta as configurações do sistema organizadas cronologicamente. Enquanto no MC, as configurações são apresentadas numa ordem aleatória, e é um método puramente estocástico [105]. A vantagem da Dinâmica molecular em relação ao método Monte Carlo, é que a MD pode ser usada para estudar dependências temporais de propriedades de um sistema, enquanto o MC, esse estudo não é possível. Entretanto o Método Monte Carlo é mais "barato" computacionalmente e mais simples para implementação computacional. Neste trabalho realizamos simulações com moléculas flexíveis, utilizando o método de Dinâmica Molecular e com moléculas rígidas, utilizando o método Monte Carlo. Introduziremos a seguir esses dois métodos voltados para simulação em sistemas líquidos moleculares.

2.3.1 Dinâmica Molecular(MD)

A Dinâmica Molecular é uma técnica de simulação computacional que permite calcular propriedades clássicas de um sistema de muitas moléculas no estado de equilíbrio, onde o movimento dessas moléculas obedece às leis da mecânica clássica. Essa

técnica assemelha bastante a um experimento real. Quando um experimental deseja realizar um experimento, ele procede da seguinte maneira: prepara a amostra do material que deseja estudar, depois através de um instrumento capaz de medir a propriedade de interesse, realiza as medidas dessa propriedade durante um certo intervalo de tempo. Como as medições estão sujeitos a um erro estatístico, se realiza uma média sobre as medidas obtidas, tornando-se a medida mais precisa. Na Dinâmica Molecular segue assemelhadamente assim: primeiramente, prepara a amostra, depois escolhe um sistema modelo, composto por N moléculas e então resolve as equações de Newton para o movimento dessas moléculas até as propriedades do sistema já não mudar com o tempo, ou seja, até atingir o equilíbrio. Depois do equilíbrio calculam-se as propriedades que deseja obter.

Assim, realizar uma simulação de um sistema molecular através das técnicas da MD é necessário seguir um algoritmo, onde cada etapa do processo é realizada para um dado instante de tempo. Na figura 2.1 está uma ilustração de um algoritmo da Dinâmica Molecular de uma forma bem simplificado.

Para iniciar uma Dinâmica Molecular, o primeiro passo é gerar uma configuração inicial do sistema que se deseja estudar, com todas as posições e velocidades iniciais. As posições iniciais dos átomos devem ser escolhidas de tal forma, que sejam compatíveis com o sistema estudado, ou seja, de modo que a densidade numérica, N/V corresponda com a densidade do sistema real para uma dada caixa inicial. Essa caixa é conhecida como a "caixa de simulação", e pode ser cúbica, ortorrômbica e etc. Afim de minimizar efeitos de fronteira, ou seja, efeitos de bordas, se emprega condições periódicas de contornos na caixa de simulação. Existem várias maneiras de escolher as velocidades iniciais, uma forma comum em simulação é através de uma distribuição de Maxwell-Boltzmann em que a energia cinética do sistema é determinada pela temperatura

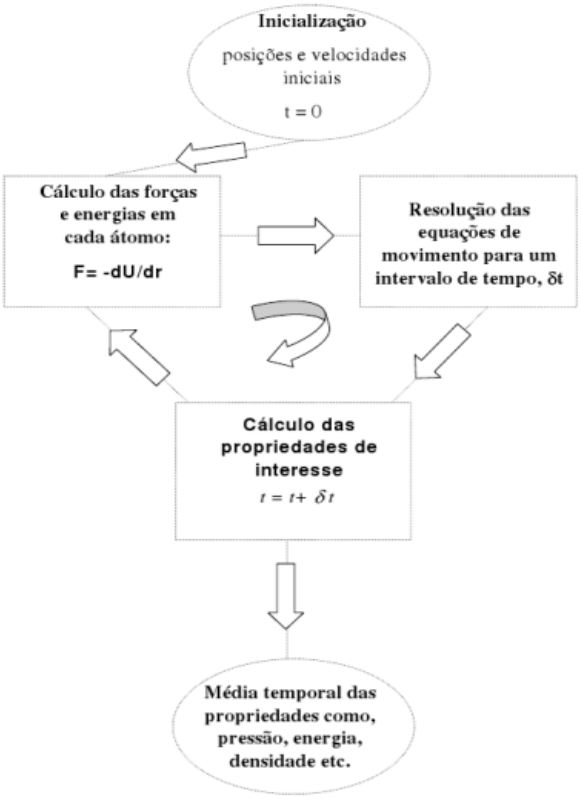

Figura 2.1: *Ilustração do algoritmo da Dinâmica Molecular*

especificada:

$$\frac{3}{2}Nk_BT = \frac{1}{2}\sum_{i=1}^{N} m_i v_i^2, \tag{2.57}$$

onde N é o número de átomos, e m_i e v_i são a massa e a velocidade do átomo i, respectivamente. Essa equação é também usada para definir a temperatura instantânea para um instante de tempo t, onde $t > t_0$, para uma nova velocidade $v_i(t)$.

Definido as condições iniciais da simulação, o próximo passo é calcular a força que atua sobre cada átomo da molécula em um instante de tempo t, através da equação dada por:

$$f_i(t) = -\frac{\partial \mathcal{U}(r_i)}{\partial r_i}, \tag{2.58}$$

onde $\mathcal{U}(r_i)$ corresponde ao potencial de interação entre os átomos, que é formado por

um termo de interação intermolecular e intramolecular, que serão discutido na subseção 2.3.3. Uma vez definido o potencial de interação, se calcula, portanto as forças em cada átomo.

Determinado a força em cada átomo, o próximo passo é determinar as posições e velocidades para um instante de tempo t, onde $t > t_0$. Esse passo é realizado através da resolução das equações diferenciais de movimento, que governa o sistema sob ação do potencial de interação entre os átomos do sistema. Usando equação 2.58, é possível obter, a partir das posições e velocidades iniciais, as posições dos átomos em qualquer instante de tempo, através da resolução das equações de movimento de Newton dada por:

$$m_i \ddot{r}_i + \nabla_i \mathcal{U}(r^N) = 0. \tag{2.59}$$

A solução dessas equações é realizada através de métodos de diferenças finitas. Atualmente, existem na literatura diversos métodos de integração para resolver essas equações diferenciais. Neste trabalho, usamos o algoritmo de Verlet [49, 104, 106] para resolver essas equações implementado no programa TINKER. Este algoritmo é obtido através da expansão de Taylor das coordenadas dos átomos, no instante de tempo t,

$$r_i(t + \Delta t) = r_i(t) + v_i(t)\Delta t + \frac{f_i(t)}{2m_i}\Delta t^2 + \frac{\Delta t^3}{3!}\dddot{r}_i + \mathcal{O}(\Delta t^4), \tag{2.60}$$

e similarmente,

$$r_i(t - \Delta t) = r_i(t) - v_i(t)\Delta t + \frac{f_i(t)}{2m_i}\Delta t^2 - \frac{\Delta t^3}{3!}\dddot{r}_i + \mathcal{O}(\Delta t^4), \tag{2.61}$$

somando as equações 2.60 e 2.61, se obtem,

$$r_i(t + \Delta t) = 2r_i(t) - r_i(t - \Delta t) + \frac{f_i(t)}{2m_i}\Delta t^2 + \mathcal{O}(\Delta t^4). \tag{2.62}$$

Esta nova posição contém um erro que é da ordem Δt^4, onde Δt é intervalo de tempo da Dinâmica Molecular, que geralmente é da ordem de 1 fs. Como se observa na equação 2.62, o algoritmo de Verlet não utiliza a velocidade para calcular as novas

posições dos átomos. No entanto, é possível obter a velocidade da trajetória usando a relação:

$$v_i(t) = \frac{r_i(t+\Delta t) - r_i(t-\Delta t)}{2\Delta t} + \mathcal{O}(\Delta t^2) \tag{2.63}$$

onde a velocidade, $v_i(t)$ possui uma precisão da ordem de Δt^2, porém é possível obter uma velocidade com maior precisão através do algoritmo Verlet-velocidade [104, 106].

Calculado as novas posições e velocidades, é gerada automaticamente uma nova configuração do sistema. Nessa nova configuração é realizado um cálculo das propriedades correntes como, temperatura, energia potencial, pressão, energia cinética, energia total, densidade, e etc. A energia total do sistema deve se conservar durante a simulação, ou seja, devem permanecer constantes durante o movimento, onde a soma das energias potencial e cinética do sistema é uma constante.

2.3.2 Método Monte Carlo

O método de Monte Carlo é uma técnica de simulação computacional que permite calcular integral, de forma numérica, através de amostragem aleatória. Essa técnica pode ser utilizada para resolver integrais do tipo da equação 2.52. Um exemplo é o calculo da função canônica de partição, $Z(T,V,T)$. Calcular analiticamente essa função para um sistema líquido molecular é inviável, devido ao potencial de interação, $\mathcal{U}$ entre as moléculas, sendo que o hamiltoniano do sistema é dado por $\mathcal{H}$=$\mathcal{K}$+$\mathcal{U}$, onde $\mathcal{K}$, corresponde ao termo cinético do sistema, que é resolvido analiticamente sem problemas, resultando a função canônica de partição na forma

$$Z(T,V,N) = \frac{1}{N!}\left(\frac{2\pi m}{\beta h^2}\right)^{3N/2} \int exp\{-\beta \mathcal{U}(\mathbf{r}^N)\} d\mathbf{r}^N. \tag{2.64}$$

Portanto tomar o valor médio sobre o ensemble NVT, por exemplo de uma propriedade $\mathcal{A}$, será dado por

$$\langle \mathcal{A} \rangle_{NVT} = \frac{\int \mathcal{A}(\mathbf{r}^{\mathcal{N}}) exp\{-\beta \mathcal{U}(\mathbf{r}^N)\} d\mathbf{r}^N}{\int exp\{-\beta \mathcal{U}(\mathbf{r}^N)\} d\mathbf{r}^N}. \tag{2.65}$$

Portanto um método de integração numérica, usando amostragens é uma ótima opção para calcular o valor médio da propriedade $\mathcal{A}$, para um dado modelo de potencial de interação. Entretanto, para sistema líquidos moleculares, é necessário uma quantidade enorme de configurações espaciais para se obter uma caracterização adequada do sistema, sendo, portanto inviável o cálculo da função de partição através desse método. Esse problema é contornado utilizando a amostragem de Metropolis e colaboradores [40], implementado no método Monte Carlo. A idéia da metodologia de Metropolis é selecionar configurações do sistema de modo probabilístico com um peso estatístico coerente energeticamente, dado pela distribuição de *Boltzmann* [107]. Como a densidade de probabilidade de encontrar o sistema numa configuração em torno de $\mathbf{r}^N$ é dada por:

$$\mathcal{N}(\mathbf{r}^N) = \frac{exp\{-\beta\mathcal{U}(\mathbf{r}^N)\}}{\int exp\{-\beta\mathcal{U}(\mathbf{r}^N)\}d\mathbf{r}^N}. \tag{2.66}$$

A idéia agora é gerar aleatoriamente pontos no espaço de configurações de acordo com esta distribuição de probabilidade $\mathcal{N}(\mathbf{r}^N)$. Isto significa que, em média, o número de pontos n_i gerados por unidade de volume em torno da configuração, $\mathcal{N}(\mathbf{r}^N)$, é igual a $L\mathcal{N}(\mathbf{r}^N)$, onde L é o número total de pontos gerados aleatoriamente. Portanto a integral da equação 2.65, pode ser calculada numericamente através de uma aproximação por uma soma efetuada sobre o número de pontos gerados,

$$\langle\mathcal{A}\rangle \approx \frac{1}{L}\sum_{i=1}^{L} n_i\mathcal{A}(\Gamma_i). \tag{2.67}$$

Portanto para obter o valor de $\langle\mathcal{A}\rangle$, usando a equação 2.66, não será necessário calcular a função canônica de partição, porém se deve conhecer o fator de *Boltzmann*, $exp\{-\beta\mathcal{U}(\mathbf{r}^N)\}$. Para gerar uma nova configuração do sistema, $\mathbf{r'}^N$, adiciona-se um pequeno deslocamento, $\Delta_{\mathbf{r}^N}$, aleatório na configuração $\mathbf{r}^N$, onde o fator de *Boltzmann*, para esta nova configuração será, $exp\{-\beta\mathcal{U}(\mathbf{r'}^N)\}$. A configuração $\mathbf{r}^N$, que é a configuração *old*, será chamada de o e a configuração $\mathbf{r'}^N$, que é a configuração *new*, será chamada de n. A decisão se aceita ou rejeita a nova configuração é tomada com base

na metodologia de Metropolis [40], onde é inserido uma probabilidade de transição $\pi(o \to n)$, do sistema sair de uma configuração o para n. No equilíbrio é conveniente impor que o número médio de configurações aceitas do sistema sair de uma configuração o para n é exatamente igual o número médio da ocorrência inversa, ou seja, n para o.

$$\mathcal{N}(o)\pi(o \to n) = \mathcal{N}(n)\pi(n \to o). \tag{2.68}$$

Existem muitas formas possíveis da matriz de transição, $\pi(o \to n)$ satisfazer a equação 2.68. Na prática, o que se faz é gerar uma cadeia de Markov, onde a matriz de Markov, $\alpha(o \to n)$, determina a probabilidade de realizar um pequeno deslocamento da configuração o para n. Portanto a probabilidade de transição, $\pi(o \to n)$, será dada por:

$$\pi(o \to n) = \alpha(o \to n)\gamma(o \to n), \tag{2.69}$$

onde $\gamma(o \to n)$ é a probabilidade de aceitação do pequeno deslocamento da configuração o para n. Na metodologia de Metropolis, a matriz α é escolhida de tal forma que seja simétrica, ou seja, $\{\alpha(o \to n) = \alpha(n \to o)\}$. Se a matriz α é simétrica, então a equação 2.68, pode ser escrita da seguinte forma,

$$\mathcal{N}(o)\gamma(o \to n) = \mathcal{N}(n)\gamma(n \to o) \tag{2.70}$$

onde a equação 2.70, pode ser escrita da forma,

$$\frac{\gamma(o \to n)}{\gamma(n \to o)} = \frac{\mathcal{N}(n)}{\mathcal{N}(o)} = exp\{-\beta[\mathcal{U}(n) - \mathcal{U}(o)]\}. \tag{2.71}$$

Existem outras formas de escolher a probabilidade de aceitação, $\gamma(o \to n)$, tal que satisfaça a equação 2.71, uma condição óbvia é que $\gamma(o \to n) \leqslant 1$. Na metodologia de Metropolis, $\gamma(o \to n)$ é dada por:

$$\gamma(o \to n) = \begin{cases} \frac{\mathcal{N}(n)}{\mathcal{N}(o)}, & \text{se } \mathcal{N}(n) < \mathcal{N}(o) \\ 1, & \text{se } \mathcal{N}(n) \geqslant \mathcal{N}(o) \end{cases}. \tag{2.72}$$

Existem outras formas de escolher a probabilidade $\gamma(o \to n)$ [49], mas a forma mais usual é através da escolha de Metropolis. Usando a equação 2.72, a probabilidade de transição pode ser escrita da seguinte forma:

$$\begin{aligned} \pi(o \to n) &= \begin{cases} \alpha(o \to n), & \text{se } \mathcal{N}(n) \geqslant \mathcal{N}(o) \\ \alpha(o \to n)\frac{\mathcal{N}(n)}{\mathcal{N}(o)}, & \text{se } \mathcal{N}(n) < \mathcal{N}(o) \end{cases} \\ \pi(o \to o) &= 1 - \sum_{n \neq 0} \pi(o \to n), \end{aligned} \tag{2.73}$$

onde a matriz, α é simétrica e geralmente considerada $\alpha(o \to n) = 1$.

O procedimento para decidir se aceita ou rejeita o deslocamento de um estado o para n, é dado da seguinte forma: suponha que é realizado um pequeno deslocamento de um estado o para n, onde $\mathcal{U}(n) > \mathcal{U}(o)$. Usando as equação 2.71, a probabilidade de aceitar esse deslocamento é dada por:

$$\gamma(o \to n) = exp\{-\beta[\mathcal{U}(n) - \mathcal{U}(o)]\} < 1. \tag{2.74}$$

Portanto, para decidir se aceita ou rejeita o deslocamento, é gerado um número aleatório ξ, através de um gerador de números aleatório, a partir de uma distribuição uniforme no intervalo [0,1]. Obviamente, a probabilidade de que ξ seja inferior a $\gamma(o \to n)$ é igual a própria probabilidade de aceitação, $\gamma(o \to n)$. Portanto o deslocamento só é aceito se $\xi < \gamma(o \to n)$, e rejeitado se $\xi \geqslant \gamma(o \to n)$. Essa regra garante que a probabilidade de aceitar um pequeno deslocamento de um estado o para n seja realmente igual a $\gamma(o \to n)$. Uma consideração importante, é que o gerador de números aleatórios escolhido, deve gerar números uniformemente no intervalo [0,1], a fim de garantir amostragens mais representativas do sistemas, com isso mais eficiência no método Monte Carlo.

2.3.2.1 O algoritmo

Neste trabalho, utilizamos o programa DICE [108], para realizar simulações de sistemas líquidos moleculares, através de técnicas de Monte Carlo. Nesse programa a metodologia de metropolis é utilizada para gerar novas configurações do sistema. O algoritmo implementado no progrma DICE seguiu o seguinte esquema:

1. **Inicialização:** Gera-se, uma configuração inicial do sistema, aleatório ou ordenada, dentro de uma caixa retangular com o volume dado através da densidade inicial fornecida do sistema. Depois, replica-se essa caixa em todas as direções, impondo condições de contorno periódicas [49], a fim de eliminar os efeitos de borda.

2. **Nova configuração:** Na configuração atual, seleciona-se uma molécula aleatoriamente, e calcula a sua energia $\mathcal{U}(\mathbf{r}^N)$. Portanto é gerada uma nova configuração, realizando um pequeno deslocamento aleatório na molécula dado por , $\mathbf{r}' = \mathbf{r} + \Delta_{\mathbf{r}}$, e é calculada a nova energia $\mathcal{U}(\mathbf{r}'^N)$.

3. **Aceitação ou rejeição da nova configuração:** Apartir da nova configuração é calculada a diferença de energia, dada por:

$$\Delta\mathcal{U} = \mathcal{U}(\mathbf{r}'^N) - \mathcal{U}(\mathbf{r}^N). \tag{2.75}$$

   Se $\Delta\mathcal{U} \leqslant 0$, então, essa nova configuração é aceita. Caso contrário, ou seja, se $\Delta\mathcal{U} > 0$, é gerado um número aleatório ξ, a partir de uma distribuição uniforme no intervalo [0,1]. Se $\xi \leqslant exp\{-\beta\Delta\mathcal{U}\}$, essa nova configuração é aceita, caso contrário, essa nova configuração é rejeitada.

4. **Cálculo das propriedades termodinâmicas:** Em cima da nova configuração do sistema é realizado um cálculo de algumas grandezas como energia interna, primeiro virial, segundo virial [49, 104]. Realizado esse calculo, são acumulados

esses valores para a média, e rotorna-se para a etapa 2 do processo. Esse cálculo marca o encerramento de um passo de monte Carlo. No final da simulação é utilizado o valor acumulado para o calculo das propriedades termodinâmicas, tal como, calor específico a volume ou pressão constante, compressibilidade isotérmica, etc.

2.3.3 Potencial de interação molecular

Um dos maiores desafios na realização de uma simulação em sistemas líquidos moleculares é a escolha do potencial de interação $\mathcal{U}(\mathbf{r}^N)$. Tanto para Dinâmica Molecular como para método Monte Carlo, essa escolha é feita através de um campo de força, onde esse é caracterizado por seu potencial de interação e pelos parâmetros usado nas equações desse potencial. Em sistemas líquidos esse potencial de interação é dividido em duas partes: intramolecular ('para átomos ligados") e intermolecular ("para átomos não ligados").

Nos métodos MD e MC, o potencial de interação representa uma parte essencial na descrição do sistema, uma vez que, para realização de uma Dinâmica Molecular, os potenciais de interação intramoleculares e intermoleculares determinam as forças que atuam em cada molécula e conseqüentemente, determinam a evolução do sistema no tempo, através das equações de Newton. Já para realização de uma simulação com o método de Monte Carlo, com as moléculas consideradas rígidas durante a simulação, se utiliza apenas o potencial de interação intermolecular, com esse potencial, determina as novas configurações favoráveis energicamente do sistema em estudo.

2.3.3.1 Potencial intramolecular

O potencial intramolecular descreve as mudanças geométricas ou distorções moleculares. Esse potencial é representado por uma soma dos três termos correspondente

as deformações na ligação, nos angulos e nos diedros dado por:

$$\mathcal{U}_{intra} = \underbrace{\sum \mathcal{U}_{\text{ligação}} + \sum \mathcal{U}_{angular} + \sum \mathcal{U}_{\text{torção}}}_{\text{átomos ligados}} + \underbrace{\mathcal{U}_{LJ} + \mathcal{U}_{C}}_{\text{átomos não ligados}} \quad . \tag{2.76}$$

onde o termo $\mathcal{U}_{\text{ligação}}$, corresponde ao estiramento de uma ligação química, e $\mathcal{U}_{angular}$ e $\mathcal{U}_{\text{torção}}$, correspondem as deformações angulares e diedrais, respectivamente. Os termos $\mathcal{U}_{LJ}$ e $\mathcal{U}_{C}$, correspondem ao potencial de Lennard-Jones(LJ) [49] e Coulomb, respectivamente. Cada termo desses é dado por:

$$\mathcal{U}_{\text{ligação}} = \frac{1}{2} k^r_{ij} (r_{ij} - r_{eq})^2 \tag{2.77}$$

$$\mathcal{U}_{angular} = \frac{1}{2} k^\theta_{ijk} (\theta_{ijk} - \theta_{eq})^2 \tag{2.78}$$

$$\mathcal{U}_{\text{torção}} = \sum_n \frac{\mathcal{U}_n}{2} [1 + cos(n\psi_{ijkl} - \gamma)]. \tag{2.79}$$

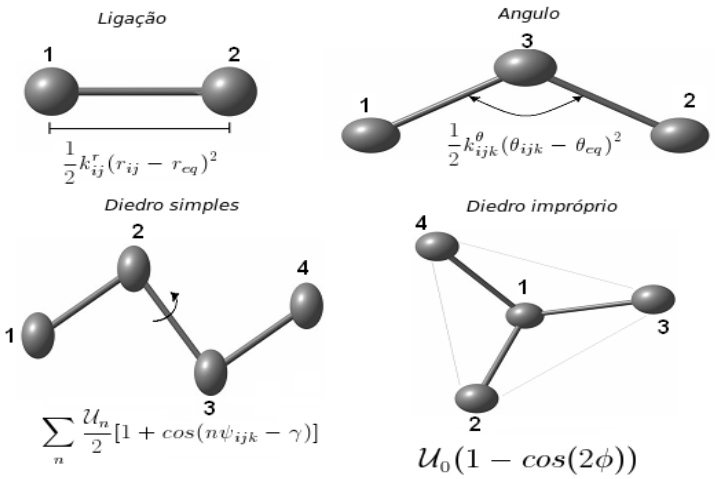

Figura 2.2: *Ilustração dos termos do potencial de interação intramolecular mostrado na equação 2.76.*

Na figura 2.2, ilustramos os três termos do potencial intramolecular. O desenho com 2 átomos, o primeiro a esquerda, representa o termo correspondente a vibração

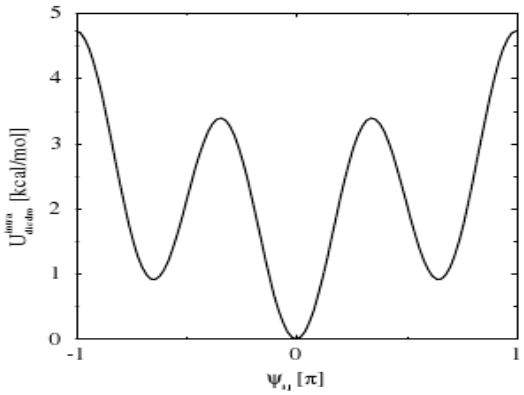

Figura 2.3: *Ilustração do potencial de torção intramolecular para o ângulo diedro da molécula de n-butano. Figura retirada da referência, [109].*

na ligação química entre os átomos 1 e 2, que é representado por um potencial harmônico com posição de equilíbrio r_{eq}. O primeiro desenho à direita representa o termo correspondente a vibrações angulares entre os três átomos $1-2-3$ que é também representado por um potencial harmônico com ângulo de equilíbrio θ_{eq}. O segundo desenho da esquerda, representa o termo da torção nos diedros simples que corresponde ao terceiro termo na equação 2.76, onde os átomos 1, 2 e 3 estão ligados e fixos no plano do papel, enquanto o átomo 4 está livre para girar em torno do eixo definido pelos átomos 2 e 3. Como se pode ver na equação 2.79, esse potencial é representado por um termo contínuo em todo o intervalo de torção $[0, 2\pi]$, e é representado por uma expansão em série de Fourier. Na figura 2.3, está uma ilustração para esse potencial de torção para o ângulo diedro da molécula de n-butano. Dependendo do tipo dos quatros átomos envolvidos na torção, este potencial pode ser representado por uma série truncada em apenas um, dois ou uma série com três termos. No campo de força OPLS [110], essa expansão de três termos é implementada da seguinte forma,

$$\mathcal{U}_{\text{torção}}(\phi_{ijkl}) = \mathcal{U}_0 + \frac{1}{2}\left[\mathcal{U}_1(1+cos(\phi)) + \mathcal{U}_2(1-cos(2\phi)) + \mathcal{U}_3(1+cos(3\phi))\right]. \quad (2.80)$$

onde $\phi = \psi - \psi_0$.

Existem outros termos que contribuem para o potencial intramolecular, como, por exemplo, o termo que descrevem as deformações dos ângulos impróprios, ver figura 2.2. O termo correspondente a esses ângulos é utilizado para manter os grupos planos no seu devido plano (por exemplo: anéis aromáticos) ou para prevenir que as moléculas deformem-se em suas imagens espectrais. Esse potencial é dado pela seguinte equação,

$$\mathcal{U}_{\text{impróprio}} = \mathcal{U}_0(1 - cos(2\phi)). \tag{2.81}$$

Outros termos que contribuem para o potencial intramolecular são os potenciais especiais. Esses são usados para impor restrições no movimento do sistema, tanto para evitar desvios desastrosos ou para incluir conhecimento de dados experimentais. Esses potenciais correspondem a restrições na posição, nos ângulos, nas distâncias e nas orientações.

2.3.3.2 Potencial intermolecular

O potencial intermolecular descreve as interações entre as moléculas do sistema. Esse potencial entre duas moléculas pode ser dado por uma soma de interações entre cada par de átomos, onde essas interações dependem apenas da distância que separa estes átomos. Na figura 2.4, está ilustrado um modelo de potencial de interação entre duas moléculas a e b. O potencial de interação intermolecular entre essas duas moléculas é dado pela soma das interações entre cada par de átomos destas moléculas, que é descrito da seguinte forma:

$$\mathcal{U}_{inter}^{ab} = \sum_i \sum_j \mathcal{U}_{ij}(r_{ij}), \tag{2.82}$$

onde cada par de átomos i e j, pertence as moléculas a e b, respectivamente e r_{ij} corresponde a distância entre os átomos i e j. O potencial intermolecular, $\mathcal{U}_{ij}(r_{ij})$ mais usado na descrição do sistema em fase líquida é o potencial de Lennard-Jones(LJ) [49], acrescido do termo correspondente às interações eletrostáticas entre cada par de

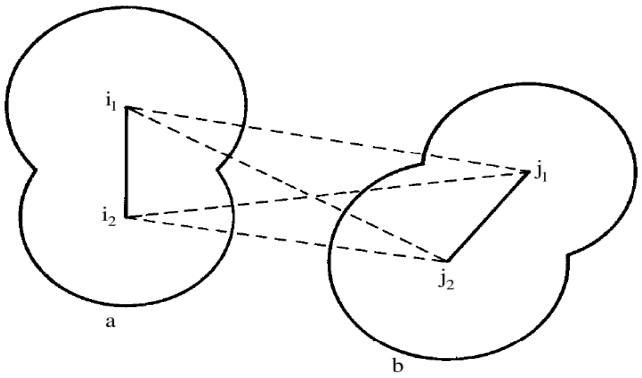

Figura 2.4: *Ilustração da interação entre duas moléculas com dois sítios cada. O potencial entre a e b é composto pelos quatro termos; i_1j_1, i_1j_2, i_2j_1 e i_2j_2. Figura retirada da referência, [49]*

átomos.

$$\mathcal{U}_{ij}(r_{ij}) = \mathcal{U}_{LJ}(r_{ij}) + \mathcal{U}_c(r_{ij}). \tag{2.83}$$

O potencial LJ é representado da seguinte forma:

$$\mathcal{U}_{LJ}(r_{ij}) = 4\epsilon_{ij}\left(\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}}\right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}}\right)^{6}\right), \tag{2.84}$$

onde ϵ_{ij} e σ_{ij}, correspondem aos parâmetros de energia de ligação e o diâmetro de Lennard-Jones, respectivamente, e r_{ij} é distância de separação entre os dois átomos i e j de moléculas distintas. Alguns campo de força, entre eles o OPLS, que está implementado no programa DICE, define os parâmetros, ϵ_{ij} e σ_{ij}, através do critério geométrico, dado por:

$$\epsilon_{ij} = \sqrt{\epsilon_{ii}\epsilon_{jj}} \qquad e \qquad \sigma_{ij} = \sqrt{\sigma_{ii}\sigma_{jj}}. \tag{2.85}$$

O potencial de Lennard-Jones é formado por dois termos, como pode ser visto na equação 2.84, um atrativo, e outro repulsivo. O termo atrativo a grande distância, $\left(\frac{1}{r}\right)^6$, é devido a correlação entre as nuvens eletrônica dos átomos. Esse termo é conhecido como interação de van der Waals. O termo repulsivo, $\left(\frac{1}{r}\right)^{12}$, domina o potencial de LJ, apenas para curtas distâncias, e é causado pelo princípio de exclusão de Pauli.

O termo do potencial de interação de Coulomb entre dois átomos carregados é dado por:

$$\mathcal{U}_c(r_{ij}) = \frac{q_i q_j}{4\pi\varepsilon_0 r_{ij}}, \tag{2.86}$$

onde q_i e q_j correspondem as cargas dos átomos e i e j, respectivamente. Esse potencial descreve as interações eletrostáticas entre cada par de átomos. As cargas pontuais para representação do potencial de Coulomb são geralmente obtidas de cálculos *ab initio*, ou diretamente de um conjunto de parâmetros estabelecidos na literatura, conhecido como campo de força. Essa última opção não é uma boa recomendação, uma vez que, as cargas na maioria das vezes não podem ser transferidas, tal como, os parâmetros ϵ_{ij} e σ_{ij}, do potencial de Lennard-Jones. Apesar de ser mais usual obter os parâmetros LJ de um campo de força, esse procedimento deve ser realizado com cautela, uma vez que esses parâmetros são desenvolvidos para determinadas condições de pressão e temperatura.

2.3.4 Cálculo da energia livre

O estado termodinâmico de um sistema líquido molecular é definido através de poucos parâmetros, como o número de moléculas N, a pressão P e temperatura T. O conjunto de configurações com esses mesmos parâmetros, representa um *ensemble*, no caso, o NPT. A energia livre para esse sistema pode ser da seguinte forma:

$$G = -k_B T ln[Y(N,P,T)], \tag{2.87}$$

onde $Y(N,P,T)$ é função de partição nas variáveis T, P e N, e é dada por:

$$Y(N,P,T) = \int_V \int_{\mathbf{p}^N} \int_{\mathbf{r}^N} exp\{-\beta(\mathcal{H} + pV)\} dV d\mathbf{p}^N d\mathbf{r}^N. \tag{2.88}$$

Embora a energia livre possa ser obtida teoricamente de uma forma bem simples, a obtenção dessa grandeza através de simulação computacional é bem complicada.

Neste trabalho, realizamos simulações com o método de Monte Carlo (MC) para calcular a energia livre de um sistema molecular. Em simulação com o método MC com amostragem de Metropolis, a dificuldade da obtenção da energia livre ainda preexiste. Isso porquê, na simulação com método MC, não se calcula a função de partição envolvida no processo. Vários trabalhos tem sido publicados na literatura com intuito de contornar esse problema, através de desenvolvimentos de métodos de calculos de energia livre em simulações computacionais [111–116]. Dentre as metodologias existentes na literatura, abordaremos a Teoria de Perturbação Termodinâmica, introduzido por Zwanzig [117].

O método perturbativo pode ser usado para calcular a diferença de energia livre ΔG, entre dois sistemas B e A, onde a diferença de energia para esses dois sistemas é dado por:

$$\Delta\mathcal{H} = \mathcal{H}_B - \mathcal{H}_A. \tag{2.89}$$

Usando as equações 2.87 e 2.88, a diferença da energia livre entre B e A, pode ser dada por:

$$\Delta G_{AB} = G_B - G_A = -k_B T ln\left(\frac{Y_B}{Y_A}\right) \tag{2.90}$$

$$= -k_B T ln\left[\frac{\int_V \int_{\mathbf{p}^N} \int_{\mathbf{r}^N} exp\{-\beta\Delta\mathcal{H}\} exp\{-\beta\left(\mathcal{H}_A + pV\right)\} dV d\mathbf{p}^N d\mathbf{r}^N}{\int_V \int_{\mathbf{p}^N} \int_{\mathbf{r}^N} exp\{-\beta\left(\mathcal{H}_A + pV\right)\} dV d\mathbf{p}^N d\mathbf{r}^N}\right], \tag{2.91}$$

onde foi introduzido no numerador da equação 2.90, o termo $exp\{\beta\mathcal{H}_A\}exp\{-\beta\mathcal{H}_A\}$, para obtenção da equação 2.91. Essa equação, como se pode observar, trata-se do valor esperado da grandeza $exp\{-\beta\Delta\mathcal{H}\}$, sobre o *ensemble* NPT para o sistema A. Portando a equação 2.91, pode ser escrita da seguinte forma:

$$\Delta G_{AB} = -k_B T ln\langle exp\{-\beta\Delta\mathcal{H}\}\rangle_A. \tag{2.92}$$

Na equação 2.92, o termo da energia cinética, que contribui para a energia livre, pode ser separado, e resolvido analiticamente. Na prática, é geralmente assumido que

está contribuição para ΔG, é muito pequena, e, portanto é ignorada no cálculo. Assim, o hamiltoniano, $\mathcal{H}(\mathbf{p}^N, \mathbf{r}^N)$ na equação mestra, reduz-se ao potencial de interação, $\mathcal{U}(\mathbf{r}^N)$, então a equação 2.92, pode ser escrita como,

$$\Delta G_{AB} = -k_B T ln\langle exp\{-\beta\Delta\mathcal{U}\}\rangle_A, \tag{2.93}$$

onde $\Delta\mathcal{U} = \mathcal{U}_B - \mathcal{U}_A$.

Definindo os dois pontos A e B, a diferença de energia livre, entre esses dois pontos, pode ser obtida através do método Monte Carlo, calculando o valor esperado da grandeza, $exp\{-\beta\Delta\mathcal{U}\}$. Na prática, o que se faz em simulações com métodos perturbativos, é definir uma série de pontos intermediários, entre os dois pontos conhecidos A e B. Portanto, o potencial de interação, torna-se uma função de um novo parâmetro λ, que recebe valores discretos no intervalo de [0,1], tal que,

$$\mathcal{U}(\lambda = 0, \mathbf{r}^N) = \mathcal{U}_A(\mathbf{r}^N) \qquad , \qquad \mathcal{U}(\lambda = 1, \mathbf{r}^N) = \mathcal{U}_B(\mathbf{r}^N), \tag{2.94}$$

onde o potencial $\mathcal{U}(\lambda, \mathbf{r}^N)$ é contínuo nas duas variáveis λ e $\mathbf{r}^N$. A dependência do parâmetro λ no potencial de interação, $\mathcal{U}(\lambda)$, pode ser imposta por várias maneiras. A forma mais simples, embora não necesariamente a melhor em termos de melhorar a convergência de ΔG na simulação, é dada por:

$$\mathcal{U}(\lambda) = (1 - \lambda)\mathcal{U}_A + \lambda\mathcal{U}_B, \tag{2.95}$$

onde $\mathcal{U}(\lambda)$, pode ser também interpretado como o *i-ésimo* estado intermediário do percurso de A a B, mudando na equação 2.95, λ por λ_i. Sendo assim, o estado anterior e posterior a $\mathcal{U}(\lambda_i)$ é dado por:

$$\mathcal{U}(\lambda_{i+1}) = \mathcal{U}(\lambda_i + \delta\lambda_i) \qquad , \qquad \mathcal{U}(\lambda_{i-1}) = \mathcal{U}(\lambda_i - \delta\lambda_i). \tag{2.96}$$

Fazendo λ variar gradativamente no intervalo [0,1], o sistema sai do estado inical, $\mathcal{U}_A$, e gradualmente é transformado no estado final $\mathcal{U}_B$. Portanto a diferença energia

livre total do processo é dada por:

$$\Delta G_{tot} = \sum_{i=1}^{M} \Delta G_{(\lambda_{i-1} \to \lambda_i)} \tag{2.97}$$

Usando a equação 2.93, pode-se escrever a diferença de energia livre, $\Delta G_{\lambda_{i-1} \to \lambda_i}$ como,

$$\Delta G_{(\lambda_{i-1} \to \lambda_i)} = -k_B T ln \langle exp\{-\beta \left[\mathcal{U}(\lambda_i, \mathbf{r}^N) - \mathcal{U}(\lambda_{i-1}, \mathbf{r}^N)\right]\}\rangle_{\lambda_{i-1}} \tag{2.98}$$

Portanto, a diferença de energia livre total é calculada através de uma soma de várias diferenças de energia livre intermediárias, $\Delta G_{(\lambda_{i-1} \to \lambda_i)}$. Para cada novo valor de λ_i, o potencial de interação, $\mathcal{U}(\lambda_i)$ sofre uma pequena perturbação, sendo portanto, necessário esperar o sistema a se reequilibrar ao novo potencial de interação, para poder realizar o acumulo de propriedades de interesse termodinâmica, tal como, energia livre, pressão, densidade, e etc. Assim, o procedimento para o cálculo da diferença de energia livre, do sistema sair de um estado A para um B é dado por:

1. Seleciona um valor de λ_i, com o potencial $\mathcal{U}(\lambda_i)$.

2. Permita que o sistema entre em equilíbrio, realiza o acumulo de ΔG.

3. Realize um pequeno deslocamento no valor de λ_i, tal que, $\lambda_i \to \lambda_{i+1}$, volte ao passo 2 e repita tudo novamente até determinar o valor total da diferença de energia livre, do sistema sair de um estado A para um B.

Portanto, a média sobre o *ensemble* é calculada por uma simples média sobre o números de deslocamento, $\lambda_i \to \lambda_{i+1}$,

$$\Delta G_{tot} = -k_B T ln \left\{ \frac{1}{M} \sum_{i=1}^{M} exp\{-\beta \Delta \mathcal{U}(\mathbf{r}^N)\} \right\} \tag{2.99}$$

Capítulo 3

Resultados Experimentais

3.1 Introdução

Neste capítulo apresentaremos e discutiremos nossas medidas do espectro eletrônico de absorção da emodina em água, clorofórmio e metanol. Todas as medidas do espectro foram realizadas na região do visível nas condições normais de pressão e temperatura em soluções ácida, alcalina e neutra.

3.2 Material utilizado

As medidas do espectro eletrônico de absorção da emodina foram realizadas num espectrofotômetro digital UV-Vis Varian Cary 50 Bio. Utilizamos papel indicador de pH para verificar se a solução em análise era ácida ou alcalina. Utilizamos também tubos de ensaios, pipetas automáticas e cubetas de quartzo de caminho óptico de 1.0 cm. As medidas do espectro UV-Vis foram realizadas nas amostras de emodina em água, clorofórmio e metanol, obtidas a partir de uma solução Stock de 20 mM de emodina.

3.3 Preparação das soluções

A partir da solução Stock, preparamos diferentes soluções, (ácida e alcalina), de emodina para os solventes água e metanol numa concentração de 0.1mM. Para garantir a acidez e basicidade das soluções, adicionamos ácido clorídrico (HCl) e hidróxido de sódio (NaOH) nas soluções de emodina em água e metanol. Desse procedimento, resultou-se em 4 amostras, uma ácida e uma básica para cada solvente. Além dessas amostras, preparamos 3 amostras para os solventes água, clorofórmio e metanol em solução neutra de emodina usando a mesma contração de 0.1 mM.

3.4 Resultados e discussões

A emodina é um composto de cor amarela, com baixa solubilidade em água, $<$1 mg/mL a 19^o C [23], mas solúvel em metanol e clorofórmio (em concordância com a literatura [22,25]). Entretanto, verificamos que a emodina é solúvel em solução aquosa alcalina e insolúvel em solução aquosa ácida.

Levamos em conta algumas considerações encontrada na literatura [22,25], descritas no capítulo de introdução, onde mostra que a emodina em solução de etanol-água à temperatura ambiente sofre processo de desprotonação. Sendo que em solução ácida, encontra-se a emodina neutra, **EM**, em solução alcalina, encontra-se a emodina na forma desprotonada, **EMdp** e em solução neutra, encontra-se uma mistura de ambas formas, **EM+EMdp**.

Os resultados das medidas do espectro eletrônico de absorção da emodina estão mostrados na figuras 3.1 e 3.2, e tabela 3.1. Na figura 3.1, está mostrado o gráfico do espectro eletrônico de absorção da molécula de emodina em metanol. Nessa figura, são identificadas 3 bandas, uma na região de 16 a 28x10$^3 cm^{-1}$, outra de 28 a 36x10$^3 cm^{-1}$, e a outra a partir de 36x10$^3 cm^{-1}$. Nessa figura pode-se observar que a mudança de pH da solução, desloca muito as bandas na região de menor energia, onde a medida

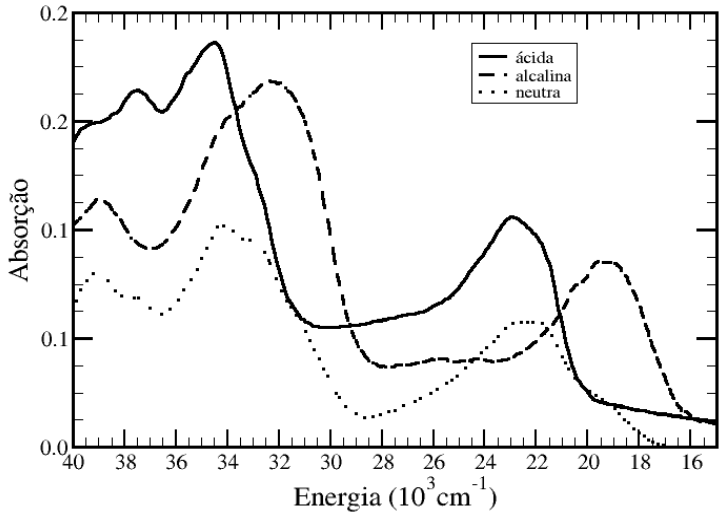

Figura 3.1: *Gráfico do espectro eletrônico de absorção da molécula emodina em solução metanol na forma ácida (**EM**), alcalina (**EMdp**) e neutra (**EM+EMdp**), na concentração de 0.1mM*

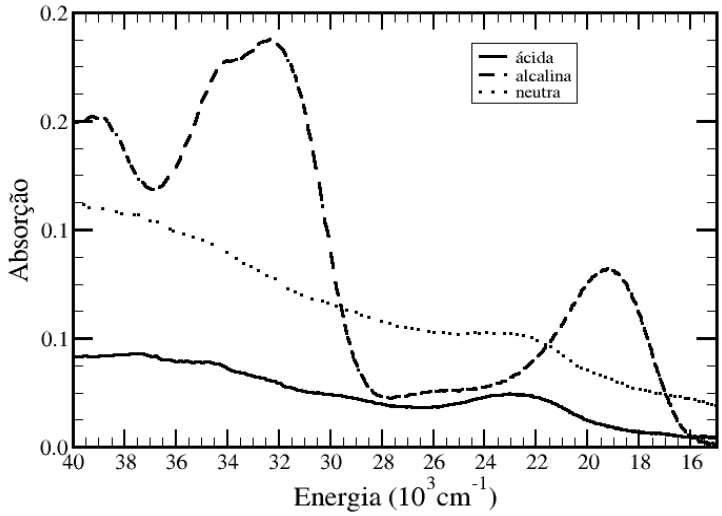

Figura 3.2: *Gráfico do espectro eletrônico de absorção da molécula de emodina em solução aquosa na forma ácida (**EM**), alcalina (**EMdp**) e neutra (**EM+EMdp**), na concentração de 0.1mM.*

que o pH aumenta, a energia tende, $E_{ácida}^{transições} > E_{neutra}^{transições} > E_{alcalina}^{transições}$. Já a relação de intensidade não segue nenhuma relação com o pH. A solução ácida apresenta maior absorbância, depois vem a alcalina e por último com menor absorbância a neutra.

Na figura 3.2, está ilustrado o gráfico do espectro eletrônico de absorção da molécula de emodina em água. Nesse solvente, as três bandas estão localizadas na região de 16 a 26x$10^3 cm^{-1}$, outra 26 a 36x$10^3 cm^{-1}$, e a última a partir de 36x$10^3 cm^{-1}$. A mudança de pH da solução, provocou um deslocamento nas bandas, com a mesma tendência que em metanol. Nessa figura, pode observa-se que, em pH neutro e ácido,

Tabela 3.1: Valores medidos para os máximos das bandas do espectro eletrônico de absorção da emodina em solução na forma ácida, alcalina (água e metanol) e neutra (água, metanol e clorofórmio), em $10^3 cm^{-1}$. Em parênteses os valores são apresentados em nm.

solução	bandas	água	metanol	clorofórmio
	1º	23.0(434)	22.9(436)	- - - -
ácida	2º	- - - -	34.5(290)	- - - -
	3º	37.6(266)	37.4(267)	- - - -
	1º	19.2(520)	19.5(513)	- - - -
alcalina	2º	32.4(309)	32.4(309)	- - - -
	3º	38.9(257)	39.1(256)	- - - -
	1º	23.0(434)	22.7(440)	22.6(442)
neutra	2º	- - - -	34.0(294)	34.5(290)
	3º	- - - -	39.1(256)	37.3(268)

existe uma grande diminuição da absorbância, sendo as bandas de menores energias, ou seja, maiores comprimentos de onda, são as mais afetadas. Esse comportamento é característico do espalhamento de luz e isso indica que houve uma agregação das

moléculas de emodina nessas soluções, mesmo não tendo sido observado nenhuma precipitação.

Na tabela 3.1, mostramos os valores medidos para os máximos das bandas do espectro eletrônico de absorção da emodina em água, metanol e clorofórmio. Em solução aquosa e metanol com diferentes acidez (ácida, alcalina e neutra), os deslocamentos nas bandas do espectro eletrônico de absorção, ocorre devido ao processo de desprotonação da emodina, compare a figura 1.3 com as figuras 3.1 e 3.2.

Uma análise coerente desses resultados é obtida, através da análise separada do espectro eletrônico de absorção da emodina em solução ácida e alcalina. Sendo em solução ácida, analisamos a **EM** e em solução alcalina a **EMdp**. Essas bandas, também foram observadas nos trabalhos de Nguyen *et al.* [25], de Fain *et al.* [27] [29] e de Jacquemin *et al.* [28].

Em solução ácida de água e metanol, observamos nitidamente a 1ª banda do espectro eletrônico de absorção da **EM**, com o máximo da banda em 23.0 e 22.9x$10^3 cm^{-1}$ (434 e 436 nm), respectivamente. Já em solução alcalina de água e metanol, identificamos a 1ª banda com o máximo em 19.2 e 19.5x$10^3 cm^{-1}$ (520 e 513 nm), respectivamente, que está associado com a molécula **EMdp**. Esses resultados estão em boa concordância com os valores de 22.9 e 22.5x$10^3 cm^{-1}$ (436.7 e 444.4 nm), medidos por Nguyen *et al.* [25], para **EM** em solução água-etanol e num polímero de PVA, respectivamente, e 19.8 e 19.8x$10^3 cm^{-1}$ (505.0 e 505.0 nm), para **EMdp** respectivamente. A dificuldade em identificar os máximos da 2ª e 3ª banda do espectro eletrônico de absorção da emodina, em solução aquosa ácida e neutra, é devido a agregação dessa molécula.

Em clorofórmio a medida foi realizada apenas em solução neutra, o resultado está mostrado na tabela 3.1 e na figura 3.3. Analisando os valores medidos para os máximos das 3 bandas do espectro eletrônico de absorção da emodina em clorofórmio, observamos que esses 3 valores estão em boa concordância com os valores dos máximos

das bandas medidos em solução ácida para água e metanol.

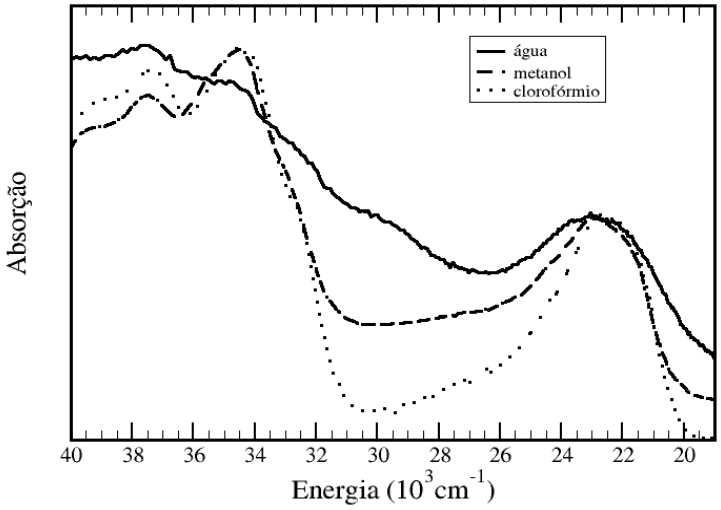

Figura 3.3: *Gráfico do espectro eletrônico de absorção da **EM** em água, clorofórmio e metanol, na concentração de 0.1nM, normalizado pela intensidade da 1ª banda.*

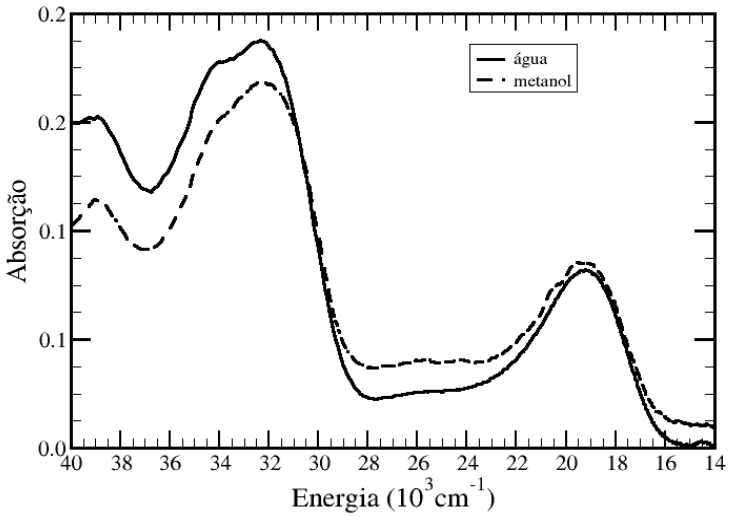

Figura 3.4: *Gráfico do espectro eletrônico de absorção da **EMdp** em água e metanol, na concentração de 0.1nM.*

Nas figuras 3.3 e 3.4, estão mostrados, separadamente os gráficos do espectro eletrônico de absorção da **EM** e **EMddp**, respectivamente. Na figura 3.3, o gráfico está normalizado pela intensidades de absorção da 1ª banda da emodina em aproximadamente 22.5x$10^3 cm^{-1}$. Analisando a figura 3.3, observamos que o solvente provoca pouco efeito nos deslocamentos das bandas, para a emodina neutra. Os deslocamentos observados para os máximos da 1ª, 2ª e 3ª bandas foram de 417, 11 e 140.0 $cm^{-1}(nm)$ (8.0, 0.1 e 1.0 nm). Na figura 3.4, observamos também que o solvente provoca pouco efeito nos deslocamentos das bandas para a emodina desprotonada. Os deslocamentos para os máximos da 1ª, 2ª e 3ª bandas foram de 262, 0 e 152.0 $cm^{-1}(nm)$ (7.0, 0.0 e 1.0 nm). Porém comparando ambos gráficos, observamos que o efeito da desprotonação é bastante pronunciado e desloca a 1ª banda de 22.5x$10^3 cm^{-1}$ (**EM**), para cerca de 19.5x$10^3 cm^{-1}$ (**EMdp**). Isso totaliz um deslocamento de cerca de $-3000 cm^{-1}$, quando a molécula de emodina é desprotonada.

Esse deslocamento para menor energia (vermelho), está em concordância com a seguinte análise: retirando um H^+ da molécula esperasse que os elétrons de valência ficassem menos ligados. Portanto para promover uma excitação para o 1º estado excitado, esperasse uma menor gasto energético e, portanto isso acarretaria num deslocamento da banda para o vermelho.

Assim, apresentamos e discutimos nossas medidas do espectro de absorção da **EM** e **EMdp**. No entanto estamos interessados em estudar teoricamente, apenas a emodina neutra, ou seja, **EM**. Assim sendo, realizamos cálculos do espectro eletrônico de absorção da **EM** em fase gasosa, água, clorofórmio e metanol. Os resultados teóricos apresentaremos e discutiremos no capítulo 4.

Capítulo 4

Resultados e Discussões

4.1 Introdução

Neste capítulo apresentaremos e discutiremos nossos resultados teóricos, obtidos do estudo da molécula emodina (EM) isoladamente e em solventes, (água, clorofórmio, metanol), através de cálculos quânticos e simulações clássicas. Todos os cálculos quânticos apresentados neste trabalho, foram realizados com os programas GAUSSIAN [118] e ZINDO [74]. E todas as simulações computacionais foram realizadas com o programa DICE [108], usando o método Monte Carlo e TINKER [119], usando o método de Dinâmica Molecular.

4.2 Análise conformacional

4.2.1 Molécula isolada

Existe um grande interesse tanto teórico como experimental em saber quais conformações, mais prováveis, uma determinada molécula se encontra no estado fundamental. Alguns trabalhos encontrados na literatura indicam que a conformação da emodina formando duas ligações de hidrogênio intramolecular é a conformação mais favorável energeticamente [25] [120]. Outros trabalhos levantam a hipótese

que essa conformação da **EM** pode sofrer processos de tautomerização e desprotonação [25] [27] [26]. Como estamos interessados na **EM**, (ver a estrutura química e numeração dos átomos na figura 4.1), realizamos inicialmente um estudo teórico sistemático das propriedades estruturais dessa molécula isolada.

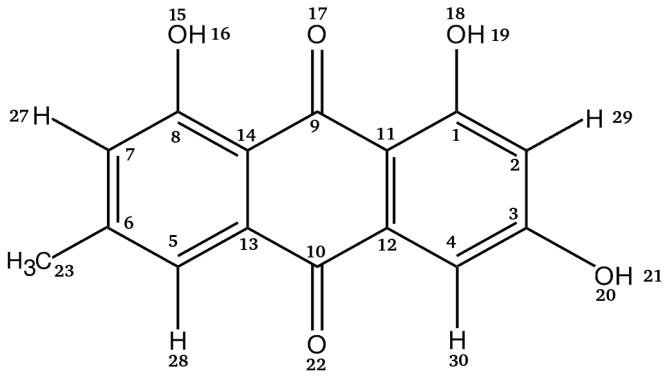

Figura 4.1: *Estrutura química da molécula emodina*

Nossa primeira abordagem neste trabalho, foi analisar o quão forte são as ligações de hidrogênio intramolecular da emodina em fase gasosa. Para tal estudo, otimizamos a geometria dessa molécula isolada com cálculos de mecânica quântica (QM), com método de cálculo de estrutura eletrônica B3LYP e a função de base 6-31G*.

Na tabela 4.1, listamos as distâncias atômicas da geometria otimizada da molécula emodina. Comparando os valores das distâncias atômica obtida com nível de cálculo B3LYP/6-31G*, com as distâncias atômicas extraída do trabalho de Nguyen e colaboradores [25], com nível B3LYP/6-31G(d,p), podemos observar que estão em boa concordância. Nessa geometria otimizada, o rotâmero da emodina se encontra na conformação formando duas ligações de hidrogênio intramolecular, ou seja, **2 HB** (H16 e H19 com O17). Além desse rotâmero, otimizamos a geometria da emodina formando os seguintes rotâmeros: **1 HB - EM** formando uma ligação de hidrogênio intramolecular (H16 com O17 ou H19 com O17). **0 HB - EM** formando nenhuma ligação de hidrogênio. **1 HB TS - EM** formando uma ligação de hidrogênio, (H16

Tabela 4.1: Comparação das distâncias atômicas obtidas para a geometria otimizada da emodina, neste trabalho, com nível B3LYP/6-31G* com o trabalho de Nguyen e colaboraderes [25] com nível B3LYP/6-31G(d,p). Os valores estão em *Á* e a numeração dos átomos está mostrada na figura 4.1.

Átmos	**EM**	Ref [25]	Átmos	**EM**	Ref [25]
C1 - C2	1.399	1.400	C8 - O15	1.345	1.338
C1 - C11	1.424	1.425	C9 - C11	1.469	1.454
C1 - O18	1.348	1.337	C9 - C14	1.476	1.460
C2 - C3	1.394	1.392	C9 - O17	1.252	1.268
C2 - H29	1.090	1.083	C10 - C12	1.495	1.495
C3 - C4	1.403	1.407	C10 - C13	1.484	1.491
C3 - O20	1.350	1.356	C10 - O22	1.231	1.226
C4 - C12	1.388	1.385	C11 - C12	1.421	1.416
C4 - H30	1.087	1.086	C13 - C14	1.413	1.418
C5 - C6	1.404	1.410	O15 - H16	0.999	0.990
C5 - C13	1.392	1.386	O18 - H19	0.991	0.991
C5 - H28	1.087	1.085	O20 - H21	0.991	0.967
C6 - C7	1.394	1.389	C23 - H24	1.096	1.096
C6 - C23	1.510	1.508	C23 - H25	1.094	1.092
C7 - C8	1.404	1.408	C23 - H26	1.098	1.096
C7 - H27	1.089	1.085	O17 ... O15	2.584	2.571
C8 - C14	1.419	1.417	O17 ... O18	2.585	2.571

com O17 ou H19 com O17), e o outro átomo de hidrogênio, (H19 ou H16, respectivamente), no estado de transição, entre as formas com e sem ligação de hidrogênio com o O17, ou seja, numa conformação perpendicular ao plano do anéis aromáticos. Na figura 4.2 mostramos as conformações desses rotâmeros da emodina.

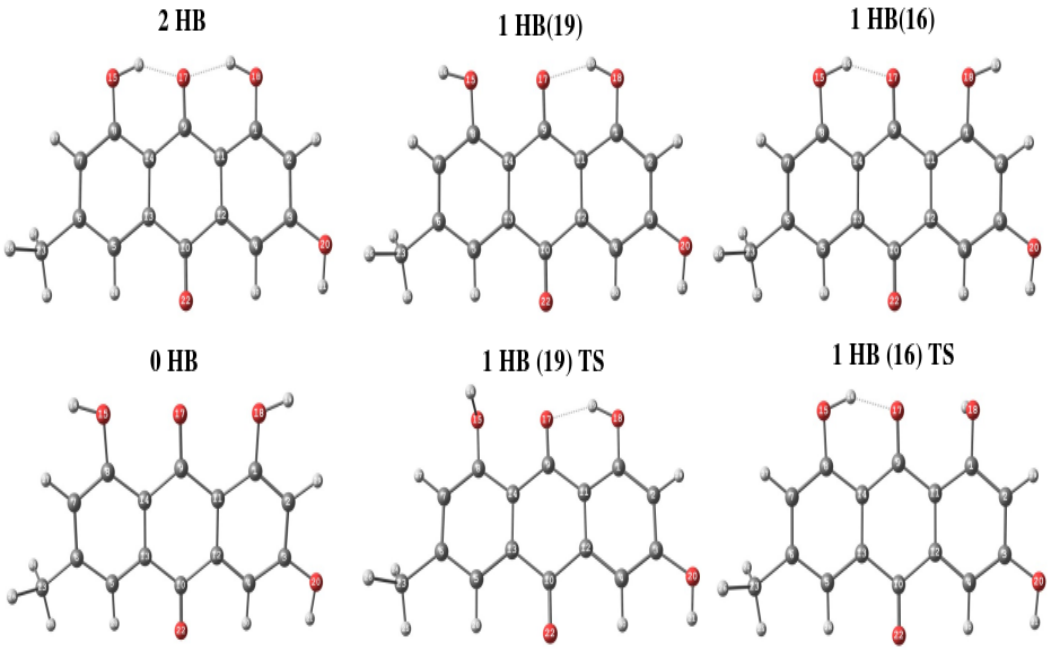

Figura 4.2: *Os rotâmeros da **EM** nas conformações estudadas.*

Na tabela 4.2, mostramos as energias relativas, e os momentos de dipolos desses rotâmeros calculados. Analisando esses resultados, observamos como esperado que a conformação mais favorável energeticamente da **EM** é a conformação que forma duas ligações de hidrogênio. Para a molécula sair dessa conformação para a conformação de uma ligação de hidrogênio é necessário fornecer uma energia em torno de $\sim$13.0 $kcal/mol$ com uma barreira de ativação de $\sim$17.6 $kcal/mol$. É interessante notar nesa tabela que a quebra de uma ligação de hidrogênio, 1 HB(19), pode aumentar em quase 84% o momento de dipolo da molécula.

Tabela 4.2: Energias relativas dos rotâmeros e seus respectivos momentos de dipolo, obtidos com a otimização de geometria com método B3LYP/6-31G*. Ver os rotâmeros estudados da figura 4.2.

emodina	$\Delta E(kcal/mol)$	$\mu(D)$
2 HB	0.00	2.48
1 HB(19)	13.24	4.56
1 HB(16)	12.99	2.87
0 HB	28.18	1.45
1 HB (H19) TS	17.63	3.08
1 HB (H16) TS	17.57	2.48
0 HB TS	31.75	1.00

4.2.2 Molécula com modelo contínuo de solvente

Adicionalmente, analisamos o efeito do solvente na estrutura eletrônica da **EM**. Realizamos novos cálculos quânticos para determinar a energia relativa e os momentos de dipolo sobre o efeito do solvente em meio aquoso e clorofórmio com a descrição do solvente com modelo contínuo polarizável (PCM).

Analisando os resultados obtidos em meio solvente, listados na tabela 4.3, observamos que a emodina necessita de $\sim 6.0kcal/mol$ e $\sim 8.3kcal/mol$ para quebrar uma ligação de hidrogênio com uma barreira de $\sim 11.5kcal/mol$ e $\sim 13.4kcal/mol$, em água e clorofórmio respectivamente. Como podemos observar é mais fácil quebrar essa ligação de hidrogênio em meio aquoso que em clorofórmio. Esse fato pode ser explicado devido à água ser mais polar que o clorofórmio, e a quebra da ligação de hidrogênio intramolecular gerar configuração com maior momento de dipolo. Portanto a interação da água com a **EM** nas conformações **1 HB** é favorecida em relação a

conformação **2 HB**.

Tabela 4.3: Energias relativas dos rotâmeros e seus respectivos momentos de dipolo, obtidos com método B3LYP/6-31G* e o solvente descrito com o modelo contínuo polarizável, PCM. Ver os rotâmeros estudados da figura 4.2.

	água		clorofórmio	
emodina	$\Delta E(kcal/mol)$	$\mu(D)$	$\Delta E(kcal/mol)$	$\mu(D)$
2 HB	0.00	3.20	0.00	2.97
1 HB(19)	6.02	5.96	8.47	5.51
1 HB(16)	6.15	4.40	8.28	3.88
0 HB	13.68	1.78	18.76	1.65
1 HB (H19) TS	11.48	4.76	13.37	4.45
1 HB (H16) TS	11.54	3.56	13.37	3.18
0 HB TS	18.45	1.38	22.90	1.18

O solvente descrito com modelo PCM não foi capaz de fornecer energia suficiente para quebrar as ligações de hidrogênio intramolecular da molécula emodina. Portanto resolvemos realizar simulações moleculares com a emodina, utilizando um modelo de solvente, onde as moléculas são incluídas explicitamente [49]. A realização dessas simulações revelará se a interação soluto-solvente e a formação de ligações de hidrogênio intermolecular irão favorecer energeticamente a quebra das ligações de hidrogênio intramolecular.

4.2.3 Molécula com modelo explícito de solvente

Para realizar uma simulação computacional é necessário escolher um campo de força apropriado para molécula de interesse. Na realização deste trabalho, escolhemos

os parâmetros de interação intramolecular e intermolecular do campo de força OPLS [110]. No conjunto de parâmetros dos campos de forças, as cargas atômicas são os parâmetros mais dependentes da conformação molecular. Por isso, optamos por testar esses parâmetros. Escolhemos três conjuntos diferentes de cargas atômicas: **OPLS** - cargas do campo de força OPLS adotando a sistemática de neutralizar os grupos químicos diferentes; **CONF** - cargas obtidas do ajuste do potencial eletrostático com o método B3LYP/6-31G*/CHELPG da configuração de mínima energia, conformação **2 HB**; **MÉDIA** - cargas obtidas do ajuste do potencial eletrostático de 21 rotâmeros, que serão apresentados em seguida.

Os rotâmeros da emodina foram obtidos rotacionando os diedros Dh16, Dh19 e Dh21, que correspondem aos ângulos de torção formados pelos seguintes átomos C7-C8-O15-H16, C2-C1-O18-H19 e C2-C3-O20-H21 respectivamente (ver figura 4.3, para numeração dos átomos). A rotação das hidroxilas foram realizada separadamente, uma

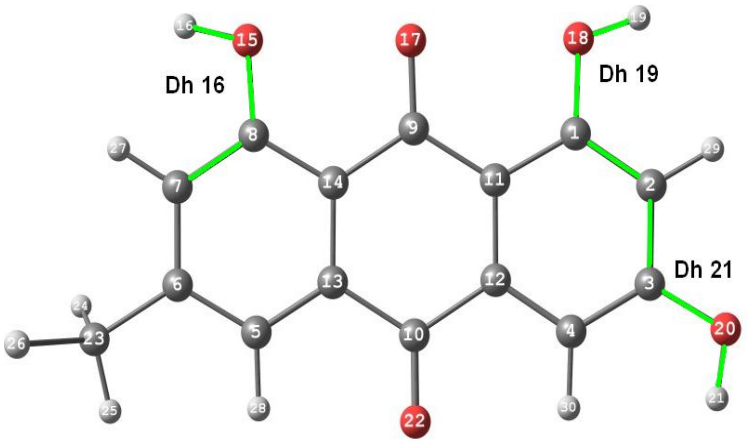

Figura 4.3: *Geometria da emodina, indicando os diedros Dh16, Dh19 e Dh21, que foram rotacionado para gerar as configurações dos rotâmeros. Nessa conformação, os valores dos diedros são: Dh16=0º, Dh19=0º e Dh21=180º.*

por vez, permanecendo as demais fixas em suas posições iniciais. Na figura 4.3, os valores iniciais dos diedros Dh16, Dh19 e Dh21 são 0º, 0º e 180º respectivamente. Cada diedro foi rotacionado de 0º a 180º com intervalo de 30º. Nas tabelas 4.4 e 4.5, mostra-

mos as cargas atômicas, para os oxigênios, obtidas do ajuste do potencial eletrostático gerado com método B3LYP/6-31G*/CHELPG para cada um dos rotâmeros.

Tabela 4.4: As cargas nos oxigênios pertencentes às hidroxilas para cada cálculo QM com método B3LYP/6-31G*/CHELPG. Ver definição dos diedros na figura 4.3.

	O15			O18			O20		
θ (°)	Dh16	Dh19	Dh21	Dh16	Dh19	Dh21	Dh16	Dh19	Dh21
0	-0.597	-0.612	-0.615	-0.609	-0.579	-0.586	-0.608	-0.603	-0.615
30	-0.577	-0.617	-0.615	-0.601	-0.564	-0.586	-0.610	-0.605	-0.615
60	-0.588	-0.612	-0.615	-0.601	-0.580	-0.586	-0.611	-0.602	-0.615
90	-0.670	-0.609	-0.610	-0.649	-0.601	-0.590	-0.675	-0.596	-0.606
120	-0.594	-0.603	-0.610	-0.601	-0.592	-0.590	-0.607	-0.599	-0.606
150	-0.579	-0.602	-0.612	-0.594	-0.577	-0.583	-0.604	-0.605	-0.597
180	-0.674	-0.620	-0.612	-0.649	-0.626	-0.579	-0.673	-0.609	-0.603

Analisando os resultados obtidos para as cargas atômicas observamos que as cargas nos oxigênios, durante a rotação dos diedros não varia significativamente, o que pode ser visto nas tabelas 4.4 e 4.5 e na figura 4.4. Observamos também que a formação das ligações de hidrogênio intramolecular provocam uma carga mais negativa no O17. Essa separação de carga que deixa o átomo O17 mais negativo, favorece a interação intramolecular das ligações de hidrogênios, uma vez que a carga nos átomos H16 e H19 é positiva. Um outro fator interessante a mencionar é que as cargas do campo de força OPLS listada na figura 4.4, são ligeiramente menores em módulo que as das cargas obtidas dos cálculos *ab initio*.

Analisando o momento de dipolo para cada rotâmero, (mostrados na tabela 4.6), observamos que a rotação nos diedros é capaz de provocar uma variação no momento

Tabela 4.5: As cargas nos oxigênios pertencentes aos carbonilas para cada cálculo QM com método B3LYP/6-31G*/CHELPG. Ver definição dos diedros na figura 4.3.

	O17			O22		
θ (°)	Dh16	Dh19	Dh21	Dh16	Dh19	Dh21
0	-0.498	-0.540	-0.543	-0.512	-0.509	-0.513
30	-0.511	-0.552	-0.543	-0.512	-0.510	-0.513
60	-0.518	-0.551	-0.543	-0.514	-0.512	-0.513
90	-0.537	-0.536	-0.537	-0.531	-0.512	-0.515
120	-0.514	-0.531	-0.537	-0.514	-0.510	-0.515
150	-0.516	-0.543	-0.540	-0.512	-0.508	-0.513
180	-0.592	-0.607	-0.540	-0.528	-0.506	-0.509

Tabela 4.6: Momento de dipolo (D) para cada rotâmero obtido da rotação dos diedros. Ver definição dos diedros na figura 4.3.

θ (°)	Dh16	Dh19	Dh21
0	1.72	4.87	5.51
30	1.97	4.73	5.51
60	2.60	4.40	5.51
90	3.28	3.94	4.75
120	3.77	3.39	4.75
150	4.40	3.08	4.82
180	4.87	3.11	4.87

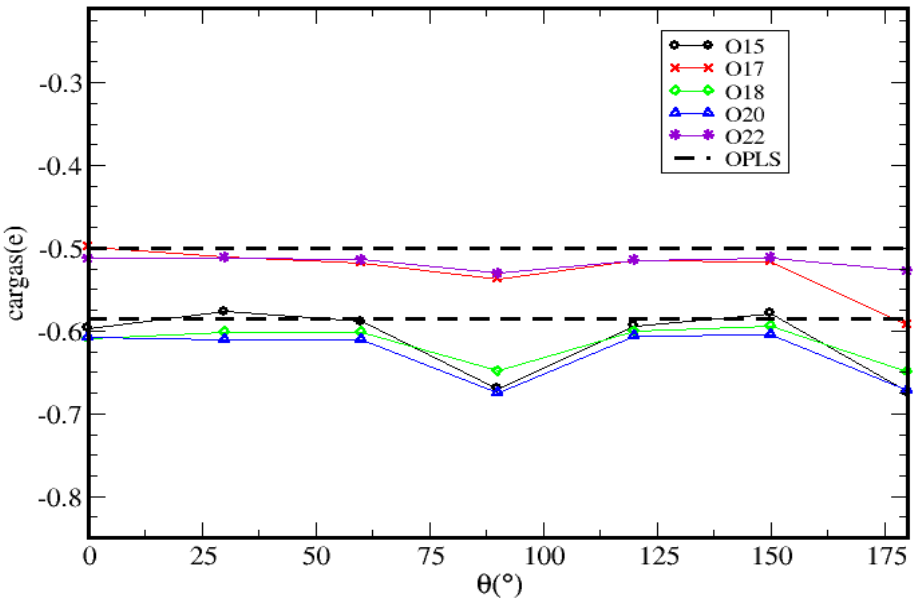

Figura 4.4: *Variação das cargas nos oxigênios da emodina, referente a rotação do Dh16, mostradas nas tabelas 4.4 e 4.5.*

de dipolo (μ) de 1.7 D a 5.5 D, ver figura 4.5. Essa variação no momento de dipolo da emodina pode ser capaz de mudar seu caráter hidrofóbico/hidrofílico, sendo que com μ=5.5 D a emodina interagem bem mais forte com a água que com μ=1.7 D. Sendo assim é necessário realizar uma simulação molecular com a molécula flexível para analisar as posições mais prováveis das hidroxilas em solução aquosa.

Verificando que as cargas nos oxigênios e também nos outros átomos não são muito sensíveis as mudanças rotacionais nos ângulos diedros, assim, para cada átomo calculamos a média das cargas sobre os 21 rotâmeros gerados. Na tabela 4.7, apresentamos os três conjuntos de cargas atômicas geradas, OPLS, CONF e MÉDIA, que foram utilizadas para testar o termo coulombiano do campo de força OPLS, através de simulações computacionais em meio aquoso.

Tabela 4.7: Cargas atômicas obtidas do campo de força (OPLS), do ajuste do potencial eletrostático da geometria de mínima energia (CONF) e da média sobre os 21 rotâmeros(MÉDIA).

Átomos	OPLS	CONF	MÉDIA	Átomos	OPLS	CONF	MÉDIA
C1	0.150	0.458	0.455	H16	0.435	0.440	0.445
C2	-0.115	-0.463	-0.433	O17	-0.500	-0.540	-0.539
C3	0.150	0.499	0.488	O18	-0.585	-0.579	-0.596
C4	-0.115	-0.338	-0.325	H19	0.435	0.474	0.472
C5	-0.115	-0.249	-0.250	O20	-0.585	-0.603	-0.613
C6	0.000	0.245	0.248	H21	0.435	0.486	0.480
C7	-0.115	-0.344	-0.346	O22	-0.500	-0.509	-0.513
C8	0.150	0.464	0.448	C23	-0.180	-0.241	-0.273
C9	0.500	0.587	0.571	H24	0.060	0.075	0.087
C10	0.500	0.484	0.479	H25	0.060	0.084	0.092
C11	0.000	-0.287	-0.277	H26	0.060	0.079	0.089
C12	0.000	0.019	0.020	H27	0.115	0.187	0.186
C13	0.000	0.025	0.016	H28	0.115	0.135	0.139
C14	0.000	-0.351	-0.303	H29	0.115	0.215	0.205
O15	-0.585	-0.612	-0.612	H30	0.115	0.160	0.161

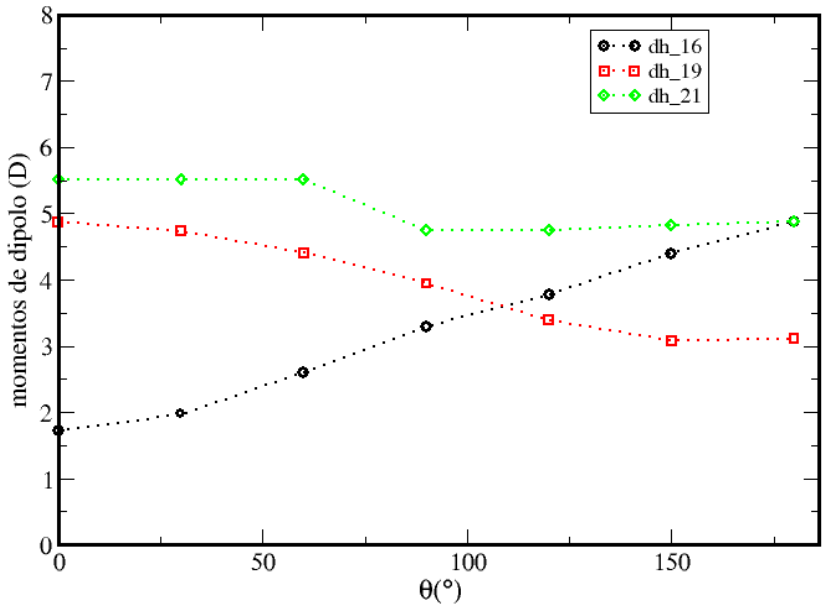

Figura 4.5: *Gráfico dos momentos os dipolo versus diedro para cada rotâmero estudado para os valores mostrados na tabela 4.6*

Na tabela 4.7, observamos que as cargas do OPLS e as obtidas do cálculo *ab intitio* concordam em sinal para todos os átomos, e que as maiores diferenças são observados nos carbonos C1-C8, C11 e C14, onde as cargas do OPLS são menores. Os conjuntos de cargas CONF e MÉDIA são muito semelhantes. Já as cargas nos oxigênios estão em boa concordância para os três conjuntos de cargas estudados. Portanto esperamos que a interação soluto-solvente e as ligações de hidrogênios entre a emodina e a água serão semelhantes para os três conjuntos de cargas estudados.

Antes de realizarmos as simulações da emodina solvatada em água, realizamos uma análise energética das rotações das hidroxilas para compararmos com os valores obtidos quanticamente para molécula isolada. Essa análise foi realizada através do programa TINKER, onde foi calculada a energia potencial para os 21 rotâmeros descritos no início desta seção. Analisando a figura 4.6, observamos que a formação da ligação

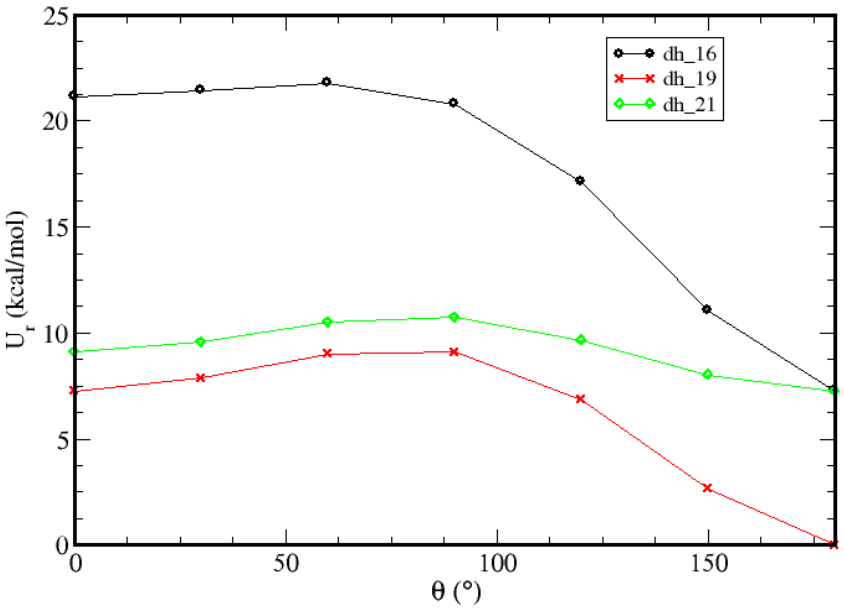

Figura 4.6: *Gráfico da energia potencial versus diedro para cada rotâmero estudado, para oconjunto de carga OPLS. Para os demais conjuntos de cargas, os resultados são semelhantes.*

de hidrogênio intramolecular provoca diminuição da energia potencial, sendo portanto o rotâmero, formando duas ligações de hidrogênio intramolecular, o de menor energia. Comparando os valores listados na tabela 4.2, com os valores mostrados na figura 4.6, observamos que os resultado obtidos com método quântico (B3LYP/6-31G*) e com potencial clássico (OPLS) estão em boa concordância. Portanto a representação da molécula emodina com o potencial clássico é um bom modelo para o estudo dessa molécula.

4.2.3.1 Simulação com moléculas flexíveis

Realizamos simulações computacionais com Dinâmica Molecular(MD) para molécula de emodina numa caixa cúbica com 500 moléculas de água no ensemble NPT, nas condições normais de temperatura e pressão. Utilizamos condições periódicas de

contorno para caixa cúbica de aresta inicial de 24.98 Å, o que gerou uma densidade inicial de 1 (g/cm^3). Para manter a temperatura e pressão constante, empregamos o termostato e barostato de Berendsen [121] a temperatura de 298K e pressão de 1 atm.

O modelo utilizado para a água foi o SPC [123]. O cálculo da interação intermolecular foi realizado para moléculas com distâncias menores que o raio de corte de 12.49Å, que é aproximadamente a metade da aresta da caixa. Para interações além do raio de corte, foi realizada uma correção de longe alcance (CLA) para o termo eletrostático através do método PME (Particle Mesh Ewald) [124]. As equações de movimento do sistema, foram integradas usando o algoritmo de Verlet [122] com as moléculas flexíveis, usando o intervalo de tempo Δt de integração. Usamos os parâmetros (ϵ, σ, q, k_r, r_{eq}, k_θ, θ_{eq}, n, $\mathcal{U}_n$ e γ) do campo de força OPLS para o potencial de interação intermolecular e intramolecular (todos os parâmetros estão listados no arquivo B.0.2, mostrados no apêncice B), com as cargas atômicas geradas de diferentes formas: OPLS, CONF e MÉDIA.

O processo da simulação foi dividido em duas etapas: (i) A termalização, partindo de uma configuração totalmente aleatória. Nesse processo usamos 100.000 passos de MD com o intervalo de tempo $\Delta t = 2fs$, totalizando uma termalização de 200 ps. (ii) A simulação propriamente dita no equilíbrio, partindo da última configuração do processo de termalização. Na simulação no equilíbrio usamos 3.000.000 passos de MD com o intervalo de tempo $\Delta t = 1fs$, totalizando uma dinâmica 3.000 ps = 3 ns.

Nas tabelas 4.8 e 4.9 e figuras 4.7, 4.8 e 4.9 estão alguns resultados obtidos nas simulações com MD. Na tabela 4.8 mostramos um sumário da análise estatística da energia total, potencial e cinética e, na tabela 4.9, a densidade e temperatura do sistema em equilíbrio. Nas figuras 4.7, 4.8 e 4.9, os gráficos dessas propriedades são apresentados para as configurações salvas num intervalo de 100 ft.

Analisando os resultados obtidos para MD da emodina, em água, verificamos que: *i)* A densidade apresenta uma pequena flutuação como esperado, e não é sensível

Tabela 4.8: Energia total($\mathcal{E}/N$), potencial($\mathcal{U}/N$) e cinética($\mathcal{K}/N$) por molécula em $kcal/mol$, das simulações para os conjuntos de cargas CONF, MÉDIA e OPLS.

	CONF			MÉDIA			OPLS		
	$\mathcal{E}/N$	$\mathcal{U}/N$	$\mathcal{K}/N$	$\mathcal{E}/N$	$\mathcal{U}/N$	$\mathcal{K}/N$	$\mathcal{E}/N$	$\mathcal{U}/N$	$\mathcal{K}/N$
Média	-7.19	-9.90	2.72	-7.19	-9.91	2.72	-7.11	-9.83	2.72
Mínimo	-7.38	-10.06	2.65	-7.37	-10.10	2.64	-7.28	-10.05	2.65
Máximo	-6.78	-9.61	2.83	-6.78	-9.60	2.82	-6.69	-9.50	2.81
Desvio	0.30	0.23	0.09	0.30	0.24	0.09	0.30	0.24	0.08

Tabela 4.9: Temperatura(K) e densidade(g/cm^3), obtidas das simulações para os diferentes conjuntos de cargas: CONF, MÉDIA e OPLS.

	CONF		MÉDIA		OPLS	
	T	ρ	T	ρ	T	ρ
Média	297.91	1.00	297.92	1.00	297.92	1.00
Mínimo	290.30	0.98	289.87	0.98	290.19	0.98
Máximo	310.39	1.02	309.90	1.02	308.20	1.02
Desvio	1.92	0.01	1.91	0.01	1.93	0.01

ao modelo de cargas atômicas do soluto (1.00±0.01 g/cm^3, para os 3 modelos de cargas). *ii)* A temperatura apresenta uma flutuação de apenas $1.9K$, e também não é sensível ao modelo de cargas atômicas do soluto(297.8±1.9K, para os 3 modelos de cargas). *iii)* As energias total, potencial e cinética por molécula apresentam pouca flutuação, (cinética, cerca de 0.08 kcal/mol e potencial cerca de 0.24 kcal/mol). Isso ocorre devido ao grande número de moléculas de água.

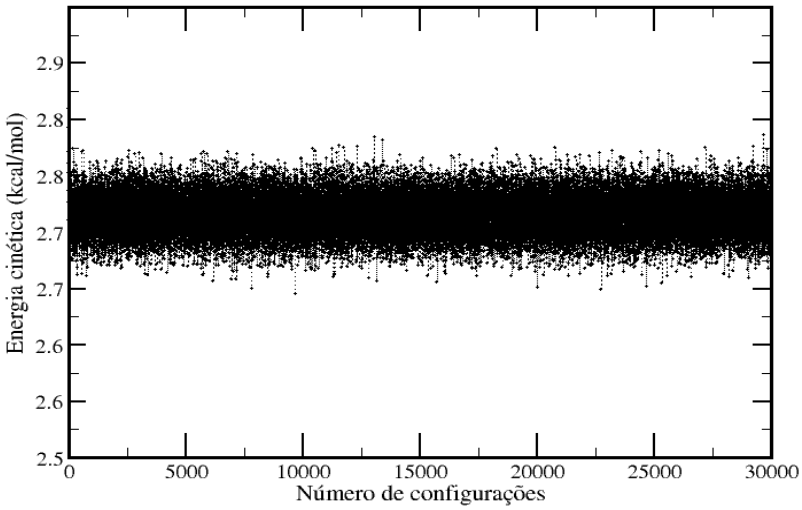

Figura 4.7: *Gráfico da energia cinética da Dinâmica Molecular da emodina no equilíbrio para o caso com cargas OPLS. Para os demais conjuntos de cargas, os resultados são semelhantes.*

Para identificar as orientações mais prováveis das hidroxilas, analisamos as rotações dos diedros (Dh16, Dh19 e Dh21), no decorrer da dinâmica do sistema. Os resultados obtidos estão mostrados na tabela 4.10 e figuras 4.10, 4.11, 4.12 e 4.13.

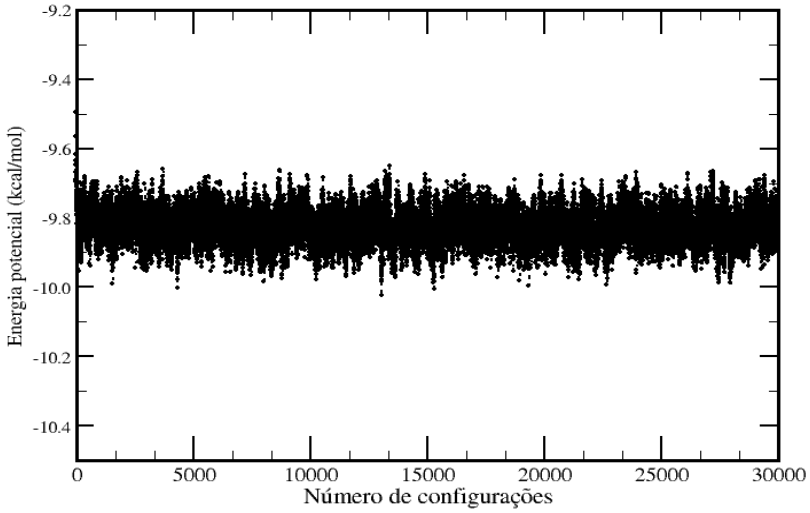

Figura 4.8: *Gráfico da energia potencial da MD da emodina no equilíbrio para o caso com cargas OPLS. Para os demais conjuntos de cargas, os resultados são semelhantes.*

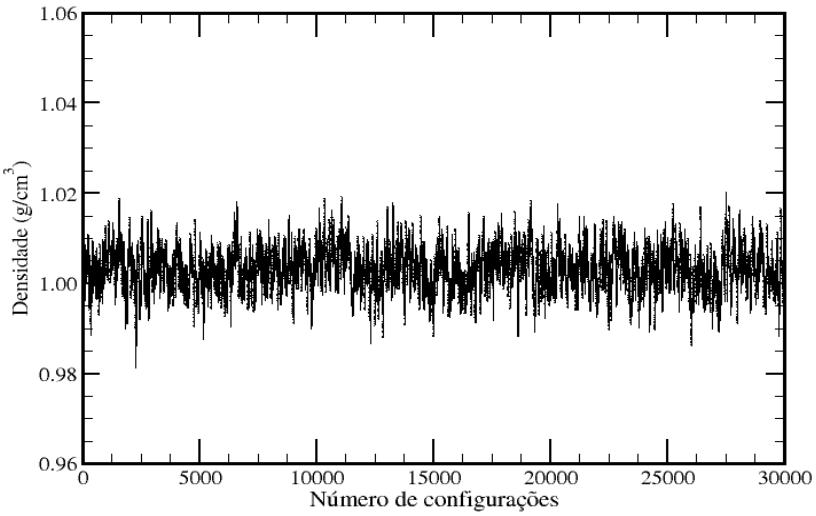

Figura 4.9: *Gráfico da densidade da MD da emodina para o caso com cargas OPLS. Para os demais conjuntos de cargas, os resultados são semelhantes.*

Tabela 4.10: Tempo total e percentual em que os ângulos diedros Dh16, Dh19 e Dh21 ficaram na orientação dentro do intervalo de 180º a 150º, ou seja, H16 e H19 formam ligação de hidrogênio intramolecular com O17 e para a hidroxila O20H21 aponta no sentido do O22.

	CONF		MÉDIA		OPLS	
180º a 150º	Tempo(ps)	%	Tempo(ps)	%	Tempo(ps)	%
Dh16	3000	100	3000	100	2625.2	87.5
Dh19	2899.4	96.6	2713.4	90.5	2631.6	87.7
Dh21	2861.4	95.4	2534.2	84.5	1684.7	56.2

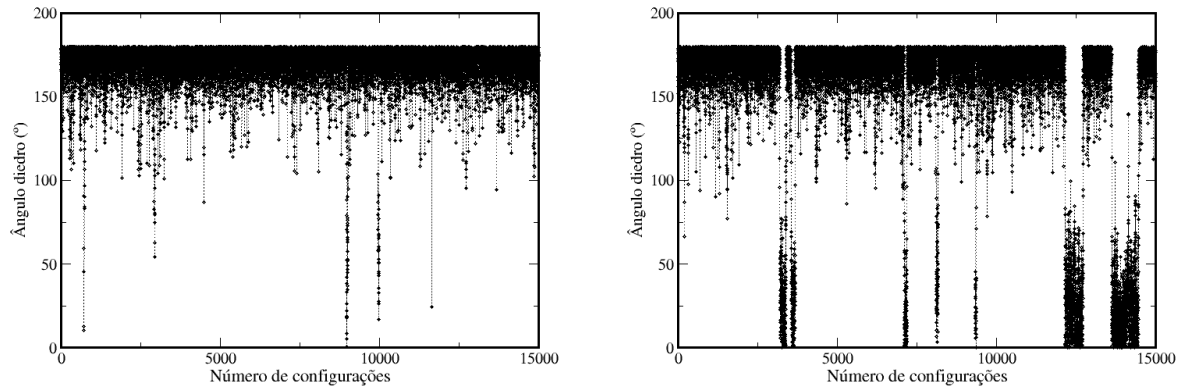

Figura 4.10: *Gráfico do ângulo diedro Dh16 versus número de configurações para CONF esquerda e OPLS direita. Para os demais conjuntos de cargas, os resultados são semelhantes.*

Observando os resultados mostrados na tabela 4.10, e figuras 4.10, 4.11, 4.12 e 4.13 para os três diedros (Dh16, Dh19 e Dh21), verificamos que eles ficaram a maior parte do tempo de simulação dentro do intervalo 180º a 150º. Para os modelos de carga CONF e MÉDIA o comportamento dos diedros foram semelhantes. Para esses dois casos, houve uma ocorrência maior que 90% no intervalo 180º-150º, exceto para

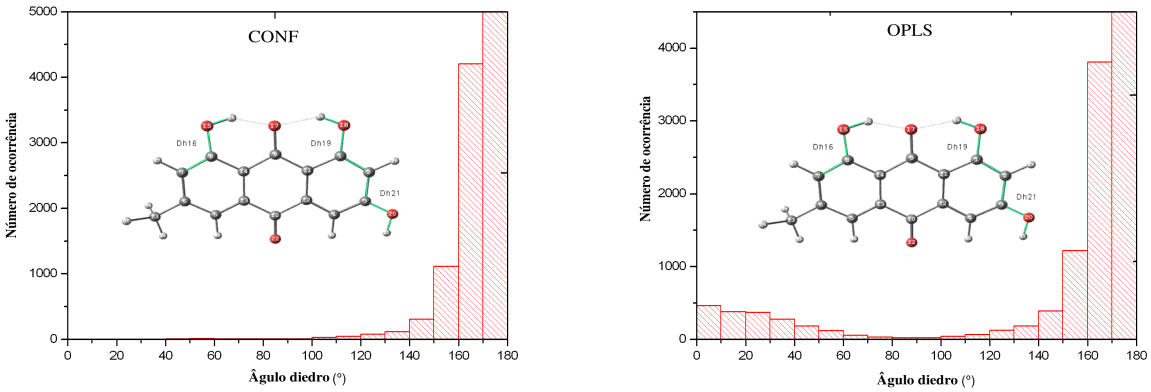

Figura 4.11: *Histograma referente ao diedro Dh16 para o conjunto cargas CONF e OPLS. Para os demais conjuntos de cargas, os resultados são semelhantes.*

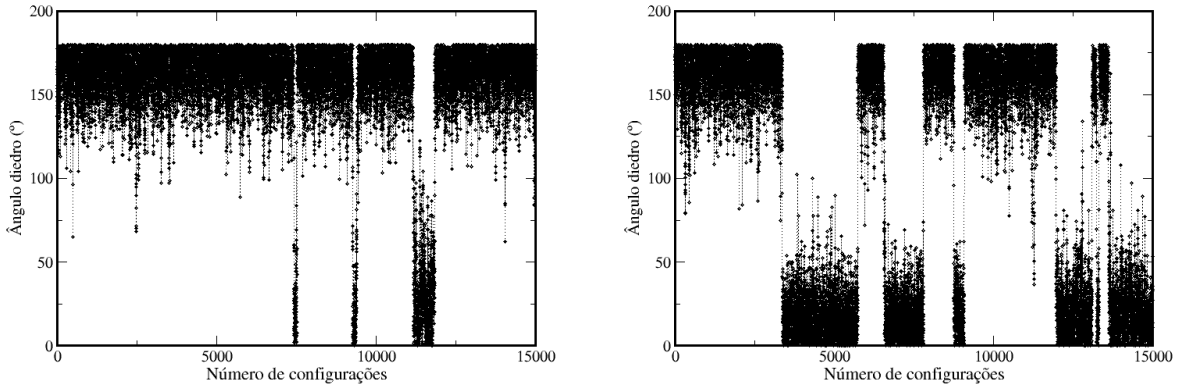

Figura 4.12: *Gráfico do ângulo diedro Dh21 versus número de configurações para CONF esquerda e OPLS direita. Para os demais conjuntos de cargas, os resultados são semelhantes.*

o Dh21 no caso MÉDIA, que foi de 84%. Já para o caso do modelo OPLS obtivemos cerca de 87% para os diedros Dh16 e Dh19 e 56% para Dh21 no intervalo 180°-150°. Nesse modelo, a hidroxila O20H21 apresentou 2 preferências conformacionais, uma com Dh21 entre 0° e 30°, e outra entre 150° e 180°.

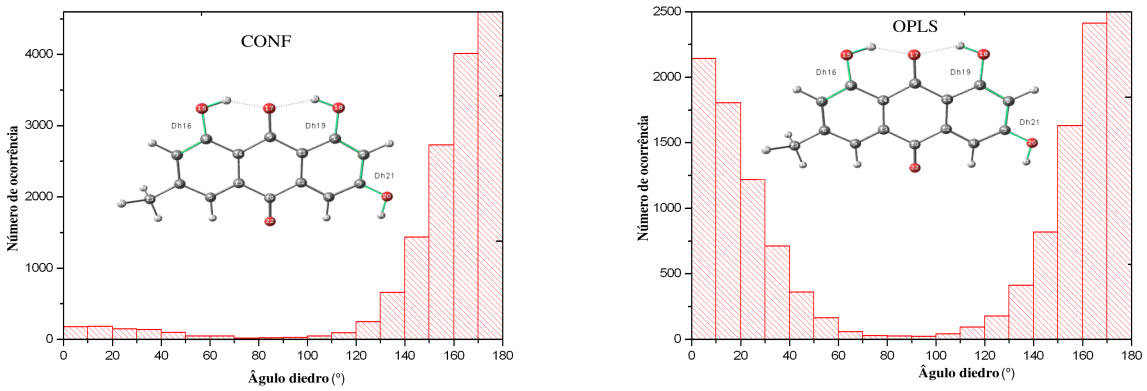

Figura 4.13: *Histograma referente ao diedro Dh21 para o conjunto cargas CONF e OPLS. Para os demais conjuntos de cargas, os resultados são semelhantes.*

Realizamos uma análise da rotação do grupo metílico pertencente a emodina. Essa análise foi realizada com base na rotação do diedro Dh25, que corresponde ao diedro formado pelos átomos H25-C23-C6-C7, (ver figura 4.14).

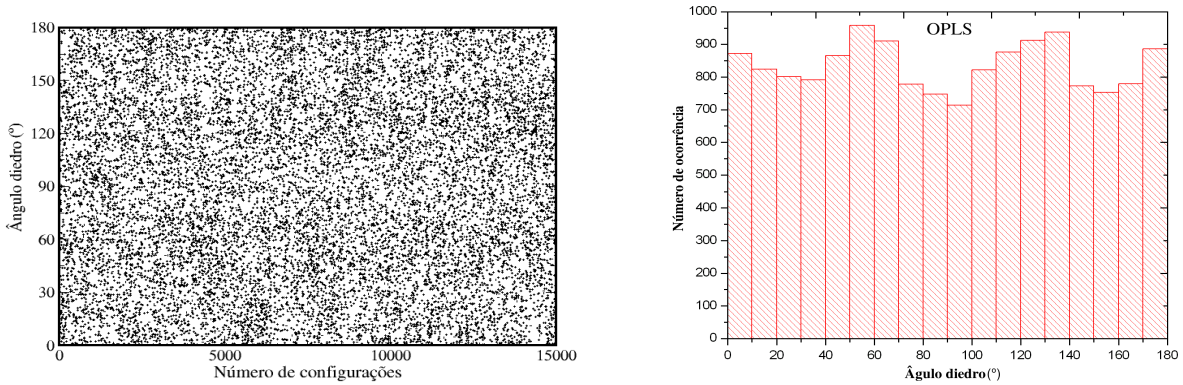

Figura 4.14: *Gráfico do ângulo diedro Dh26 versus número de configurações a esquerda e histograma referente a esse diedro a direita. Ambos os gráficos para o conjunto de cargas OPLS. Para os demais conjuntos de cargas, os resultados são semelhantes.*

Na figura 4.14 mostramos a distribuição do ângulo diedro Dh25. Nessa figura pode-se observar que o grupo metílico é bem flexível, ocupando valores entre 0° a 180° com uma densidade de pontos quase uniforme. Entretanto analisando o gráfico do histograma do diedro Dh26, nessa mesma figura, verificamos que os hidrogênio do grupo metílico, apresentam uma ligeira preferência a ficar em torno dos ângulos 60° e 120°, que são justamente as conformações *gauche* cis e trans. Isso acontece devido a essas conformações serem as mais favoráveis energeticamente.

Sendo assim, resolvemos realizar uma simulação com a molécula de emodina rígida usando o método Monte Carlo(MC) na conformação com os três diedros em 180°, como mostra a figura 4.15, para verificarmos se o modelo rígido para essa molécula é um bom modelo.

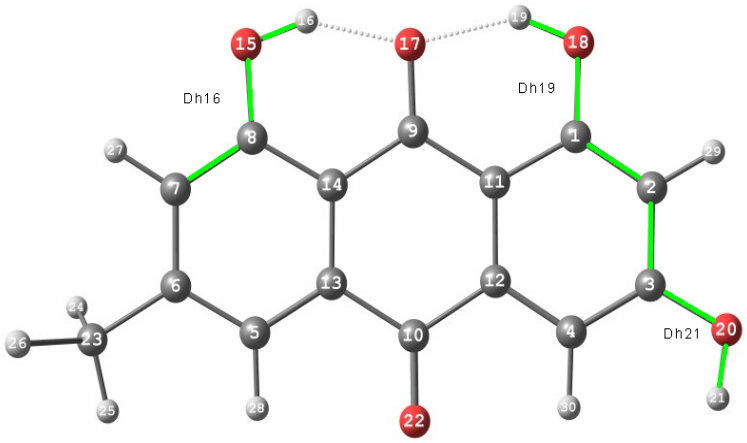

Figura 4.15: *Geometria da molécula emodina na conformação com os três diedros, Dh16, Dh19 e Dh21 em 180°.*

4.2.3.2 Simulação com moléculas rígidas

Realizamos simulações com a molécula da emodina, usando método de Monte Carlo com amostragem de Metropolis e condições periódicas de contorno numa caixa com 500 moléculas de água no ensemble NPT nas condições normais de temperatura e pressão. O volume inicial da caixa foi calculado a partir da densidade inicial de 1.0

g/cm^3. Uma configuração inicial do sistema foi gerada, distribuindo aleatoriamente as 501 moléculas na caixa de simulação.

A geometria da emodina foi mantida rígida durante toda simulação na conformação mostrada na figura 4.15, que foi a mais provável obtida da simulação com as moléculas flexíveis. Usamos o mesmo campo de força OPLS, (ver ϵ, σ tabela 4.11), para o potencial de interação intermolecular com as cargas atômicas geradas de diferentes formas: OPLS, CONF e MÉDIA. O dipolo calculado para a molécula de emodina

Tabela 4.11: Parâmetros Lennard-Jones da molécula emodina do campo de força OPLS [110].

átomos	$\epsilon(kcal/mol)$	σ(Å)
C (aromático)	0.070	3.550
H (aromático)	0.030	2.420
O (hidroxila)	0.170	3.070
H (hidroxila)	0.000	0.000
O (carboxila)	0.210	2.960
C (metil)	0.066	3.500
H (metil)	0.030	2.500

nos três conjuntos de cargas é de 2.2, 2.3 e 3.1 D respectivamente. Esses valores estão bem próximos dos valores médios do dipolo da emodina obtidos com MD. Assim, como na Dinâmica Molecular, o modelo utilizado para a água foi o SPC [123].

A energia configuracional foi calculada para moléculas com distância menos que o raio de corte $r_c = \frac{1}{2}L$, onde L é a aresta da caixa cúbica. Para distâncias além do raio de corte, foi realizado uma correção de longo alcance(CLA) para o potencial de Lennard-Jones. A CLA do potencial de Lennard-Jones é obtida através da função

distribuição radial de pares. A simulação foi realizada em dois estágios. O primeiro a termalização, partindo de uma configuração totalmente aleatória. Esse estágio foi realizado com 30.000 ciclos de MC, onde em cada ciclo, N moléculas da caixa são selecionadas para mover. No segundo estágio, a simulação do equilíbrio foi iniciada, partindo da última configuração do processo de termalização. Esse estágio foi realizado com 75.000 ciclos de MC.

As propriedades termodinâmicas calculadas nessas simulações estão mostradas na tabela 4.12 e figuras 4.16 e 4.17. Analisando o gráfico da figura 4.16 da energia potencial por molécula, que corresponde ao estágio do processo de termalização, observamos que o sistema atingiu o equilíbrio nos 30.000 primeiros ciclos.

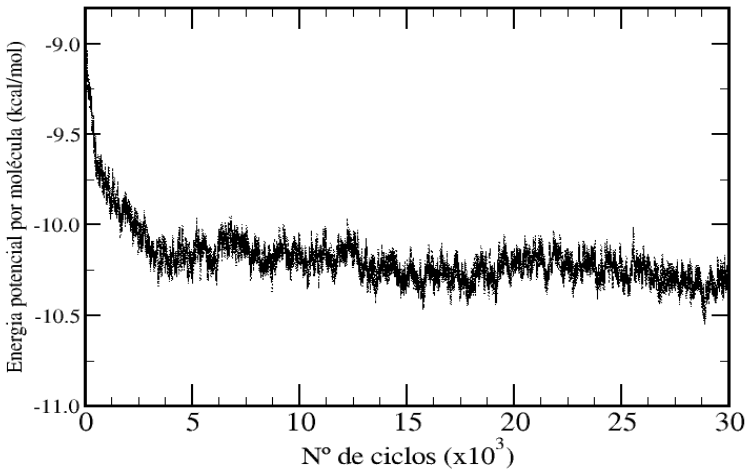

Figura 4.16: *Gráfico energia por molécula versus número de ciclos para simulação MC da* ***EM*** *no ensemble NPT no processo de termalização para o caso OPLS. Para os demais conjuntos de cargas, os resultados são semelhantes.*

Na figura 4.17, mostramos que a energia potencial por molécula do sistema no estado de equilíbrio flutua em torno de -10.2 ± 0.06, para o conjunto de carga OPLS. A densidade do sistema não variou muito durante a simulação, onde essa flutuou em torno de 1.00 ± 0.01, o que pode ser visto na figura 4.18.

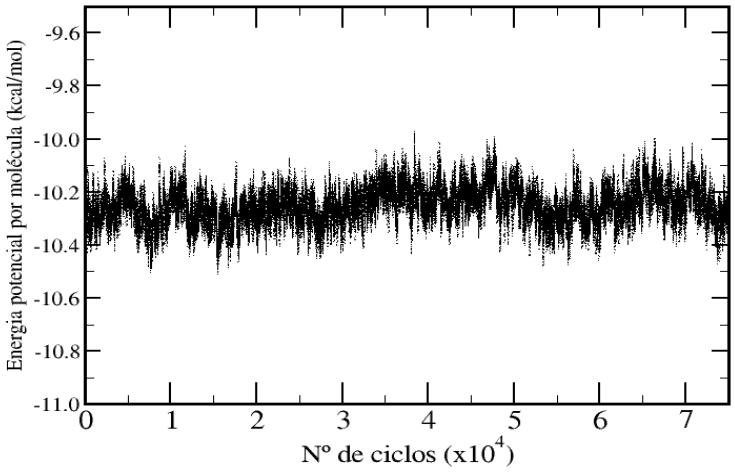

Figura 4.17: *Gráfico energia por molécula versus número de ciclos para simulação MC da* ***EM*** *no ensemble NPT no equilíbrio térmico para o caso OPLS. Para os demais conjuntos de cargas, os resultados são semelhantes.*

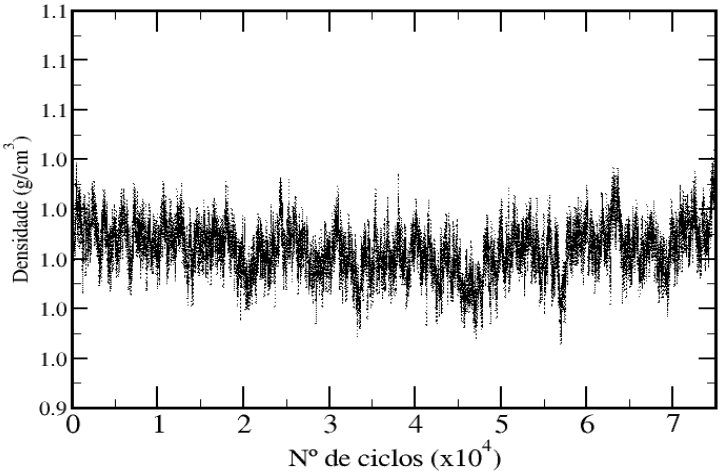

Figura 4.18: *Gráfico da densidade da simulação MC da emodina para o caso com cargas OPLS. Para os demais conjuntos de cargas, os resultados são semelhantes.*

4.2.3.3 Comparação das simulações

Nas simulações realizadas utilizando o método de Dinâmica Molecular e Monte Carlo, observamos para ambos os métodos, que o comportamento da energia por molécula durante a simulação é semelhante. Esse comportamento é de tal forma que a energia do sistema sai de uma energia inicial U_0 e gradualmente atinge um valor médio da energia $\langle U \rangle$, no qual fica flutuando em torno desse valor. As configurações geradas no estágio de não-equilíbrio não são interessantes e nem relevante. Já as configurações geradas no estágio de equilíbrio foram consideradas nos cálculos das propriedades estruturais e termodinâmicas, que discutiremos abaixo.

Tabela 4.12: Dipolo da emodina e suas energias de interação com a água obtidas das simulações MD e MC.

	MD		MC	
	E $(kcal/mol)$	$\mu(D)$	E $(kcal/mol)$	$\mu(D)$
CONF	-63.0±7.7	2.7±0.7	-57.75±4.3	2.2
MÉDIA	-64.0±8.1	2.8±0.8	-56.79±5.2	2.3
OPLS	-66.8±7.4	2.9±1.2	-61.85±4.4	3.1

Na tabela 4.12, mostramos os valores da energia de interação emodina-água $(kcal/mol)$ e momentos de dipolo (D) para os 3 conjuntos de cargas, obtidos das simulações com os métodos MD e MC. Nessa tabela, verificamos que a interação da emodina com as moléculas de água, nas simulações com os métodos MD e MC, apresenta pouca variação em relação ao modelo usado para as cargas atômicas do soluto, mas o modelo OPLS favorece mais essa interação e isso deve ser decorrência do maior momento de dipolo. Observamos que a energia soluto-solvente obtidas através do método MC com a emodina rígida é sistematicamente menor que as energias obtidas

através do método MD com a emodina flexível. Entretanto mesmo com essa pequena diferença, essas energias seguem a mesma tendência e estão em boa concordância.

As ligações de hidrogênio e camadas de solvatação da emodina em água foram analisadas para os dois métodos de simulação. A partir das configurações geradas pelos 2 métodos analisamos as ligações de hidrogênio através de critérios geométricos (radial R_{OO} e angular $O\hat{O}H$) [125, 126]. Neste trabalho usamos os seguintes critérios: $R_{OO} \leq 3.15$ $\mathring{A}$ e $O\hat{O}H \leq 30^{o}$. Na tabela 4.13, listamos o número médio de ligações de hidrogênio e a energia de ligação média para cada simulação realizada com esses métodos de simulação.

Analisando os resultados da tabela 4.13, observamos que existe em média cerca de cinco a seis moléculas de água se ligando a emodina através de ligações de hidrogênio em ambos os métodos nas três distribuições de cargas atômicas. A energia de ligação média é em torno de 5 kcal/mol.

Na tabela 4.13, observamos que o O22 faz mais ligações de hidrogênio que O17, isso deve acontecer devido ao oxigênio O22 está livre sem impedimentos estéricos, facilitando com isso a interação com a água, enquanto o oxigênio O17 está protegido com as duas ligações de hidrogênio intramolecular. Portanto, o O17 prefere interagir intramolecularmente que interagir com o meio externo.

Assim, considerando que a hidroxila pode ter um papel de aceitador de ligações de hidrogênio (na tabela 4.13, esse caso é representado pelos átomos de oxigênio), e um papel de doador de ligações de hidrogênio (na tabela 4.13, esse caso é representado pelos átomos de hidrogênio), as hidroxilas O15H16, O18H19 e O20H21, têm cerca de 1.0, 1.0 e 2.0 ligações de hidrogênio respectivamente, para os 3 conjuntos de cargas utilizadas em ambos os métodos. Verificamos também, que as energias de interação quando a emodina é doadora de ligações de hidrogênio, é mais forte na MD, mas como ocorre pouca vez, esse efeito não se reflete na interação média. O fato do número de ligações de hidrogênio para o H16 e H19 em MC ser igual a zero, ou seja, $\langle N^{o} \rangle = 0.0$,

Tabela 4.13: Número médio e energia média por ligação de hidrogênio formadas pelas águas com as hidroxilas da emodina obtidas das simulações MC e MD.

MC	CONF		MÉDIA		OPLS	
átomos	$\langle N^o \rangle$	$\langle E_{lig} \rangle$	$\langle N^o \rangle$	$\langle E_{lig} \rangle$	$\langle N^o \rangle$	$\langle E_{lig} \rangle$
O15	0.9	-3.40	0.8	-3.15	1.0	-3.50
O17	0.1	-1.21	0.1	-1.11	0.1	-0.61
O18	0.8	-2.86	0.6	-2.90	1.0	-3.77
O20	0.7	-2.33	0.7	-2.75	1.2	-3.34
O22	1.4	-4.57	1.5	-4.66	1.0	-3.85
H16	0.0	-0.66	0.0	-0.19	0.0	-0.24
H19	0.0	-1.44	0.0	-0.97	0.0	-0.92
H21	1.0	-10.80	1.0	-9.91	1.0	-7.17
Total	**4.9**	**-4.94**	**4.7**	**-4.92**	**5.3**	**-4.23**
MD	CONF		MÉDIA		OPLS	
átomos	$\langle N^o \rangle$	$\langle E_{lig} \rangle$	$\langle N^o \rangle$	$\langle E_{lig} \rangle$	$\langle N^o \rangle$	$\langle E_{lig} \rangle$
O15	0.9	-3.96	0.9	-3.96	1.0	-4.17
O17	0.3	-3.11	0.3	-3.42	0.2	-3.19
O18	0.7	-3.14	0.7	-3.43	1.0	-4.00
O20	0.8	-2.67	0.8	-2.86	1.2	-3.73
O22	1.4	-4.95	1.5	-5.00	1.1	-4.03
H16	0.1	-4.39	0.1	-4.30	0.1	-5.14
H19	0.3	-6.72	0.2	-7.21	0.2	-5.20
H21	1.0	-11.69	1.0	-11.16	1.0	-7.88
Total	**5.4**	**-5.46**	**5.6**	**-5.40**	**5.9**	**-4.42**

com precisão de 1 casa decimal, não significa que é zero absoluto, por isso podemos obter a energia média para poucas ligações que têm menos de 1% de ocorrência, que é o que ocorre nesses casos.

Um outro fato interessante a ressaltar é que a hidroxila O20H21 está livre para interagir com a água, uma vez que essa hidroxila não forma nenhuma ligação de hidrogênio intramolecular. Assim, essa hidroxila interagem mais fortemente com água, que pode ser observado na energia de ligação do H16 com água na tabela 4.13. Essa forte interação com água, torna esse grupo mais vulnerável a desprotonação, em concordância com o trabalho [22]. Enquanto as demais hidroxilas estão interagindo intramolecularmente, com energia de ligação de hidrogênio em módulo menor que da hidroxila O20H21. Os três conjuntos de cargas, CONF, MÉDIA e OPLS, apresentaram resultados análogos com respeito às interações da emodina com água.

A função de distribuição radial (RDF) de pares entre o oxigênio O20 da emodina com o oxigênio da água é mostrado na figura 4.19, para os métodos estudados MD e MC, para o modelo de cargas OPLS. Nessa figura, é identificado um pico na região de 2.4 a 3.15 $\AA$, com um máximo em 2.75 $\AA$. Integrando esse pico obtêm-se 1.2 moléculas de água nessa primeira vizinhança da emodina para ambos os métodos. Esse valor está em concordância com o valor obtido e mostrado na tabela 4.13.

Estudamos as camadas de solvatação da emodina através da função de distribuição de mínima distância (MDDF), definida por Coutinho e colaboradores [127, 128]. Essa função pode ser interpretada como a probabilidade de encontrar um par de átomos (a_i, b_j) do soluto(a) e solvente(b) numa menor distância r_{ij}, dentre todas as distâncias possíveis entre todos os átomos do soluto e solvente. As MDDF obtidas com os métodos MC e MD estão mostradas na 4.20. O número de moléculas em cada camada é definido pela integração de cada pico da MDDF, sendo que o primeiro pico, corresponde a 1ª camada de solvatação e assim os demais, ver tabela 4.14.

Analisando a tabela 4.14 e figuras 4.19 e 4.20, observamos que a distribuição das

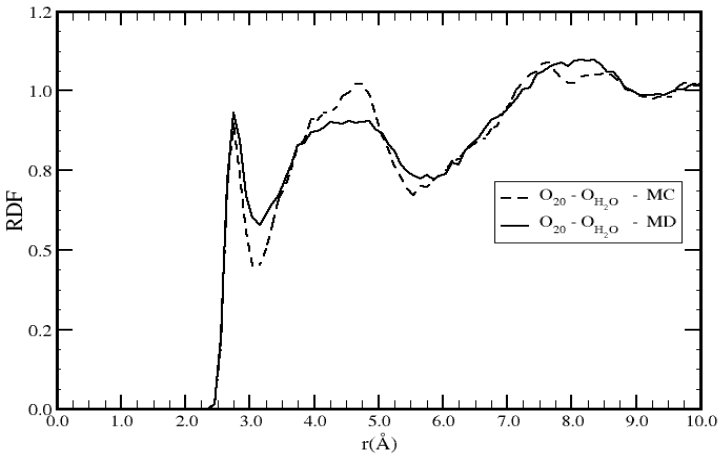

Figura 4.19: *Gráfico da função de distribuição radial (RDF) de pares entre o oxigênio O20 da emdina e o oxigênio da água para os métodos MD e MC, com o conjunto de cargas OPLS. Para os demais conjuntos de cargas, os resultados são semelhantes.*

Tabela 4.14: Estudo da camada de solvatação da emodina em água para os métodos de simulação MC e MD, onde LH refere a camada de água que forma ligações de hidrogênio.

método	CONF		MÉDIA		OPLS	
MC	r(Å)	Nº moléculas	r(Å)	Nº moléculas	r(Å)	Nº moléculas
LH	2.15	5.3	2.15	5.1	2.15	5.9
1º camada	4.75	68.0	4.45	60.0	4.75	68.0
2º camada	6.95	153.0	6.85	152.0	6.85	150.0
MD	r(Å)	Nº moléculas	r(Å)	Nº moléculas	r(Å)	Nº moléculas
LH	2.15	5.9	2.15	6.0	2.15	6.5
1º camada	4.65	69.0	4.75	69.0	4.95	75.4
2º camada	6.90	152.0	6.85	152.0	6.85	153.0

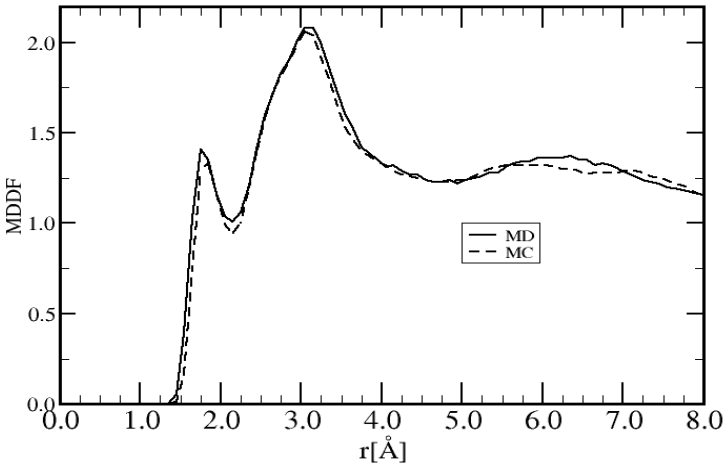

Figura 4.20: *: Gráfico da distribuição de mínima distância (MDDF), entre a emodina e a água para o modelo de distribuição de cargas atômicas OPLS, obtido da simulação com os métodos MD e MC. Para os demais conjuntos de cargas, os resultados são semelhantes.*

moléculas de água em torno da emodina é semelhante em ambos os métodos MC e MD, para as três distribuições de cargas atômicas estudadas CONF, MÉDIA e OPLS. Na primeira camada de solvatação estão cerca de cinco a seis moléculas de água, que são justamente as moléculas de águas que formam as ligações de hidrogênio, vista na tabela 4.13. Na segunda camada estão cerca de 65 águas, e na terceira camada estão cerca de 150 águas. Portanto o modelo rígido descreve bem as interações da emodina com água, para os três conjuntos de cargas estudados. Assim, escolhemos esse modelo e o conjunto de cargas OPLS para estudar a solvatação diferencial e o espectro eletrônico de absorção da emodina em diferentes solventes.

4.3 Solvatação diferencial

Para tentar compreender o carácter hidro/lipofílico da molécula de emodina, estudamos a sua solvatação diferencial em 3 solventes com diferentes polaridades: água, clorofórmio e metanol. O processo de solvatação da emodina em diferentes

solventes foi realizado baseados nas técnicas de Ben-Naim [129], onde a idéia é inserir uma molécula do soluto em fase gasosa para o interior do líquido à temperatura T e à pressão p constante.

A energia livre de Gibbs de solvatação foi calculada usando a teoria de perturbação termodinâmica, descrito no capítulo de métodos, utilizando as técnicas de Monte Carlo com amostragem de Metropolis, implementado no programa DICE. Esse cálculo foi realizado para três tipos de solventes: (i) 1000 moléculas água. (ii) 500 moléculas de metanol. (iii) 500 moléculas de clorofórmio. Todas as simulações foram realizadas no ensemble NPT nas condições normais de pressão e temperatura.

O cálculo da energia livre é considerado um dos mais sensíveis dentro da termodinâmica, uma vez que a energia livre de Gibbs está associada com o potencial químico do sistema. Portanto calcular a energia livre do processo de transferir uma molécula do soluto para o interior do líquido é bastante problemático. A fim de contornar esse problema, adotamos a técnica de calcular a diferença de energia livre de aniquilar a molécula do soluto na solução, ou seja, $\Delta G_{EM\rightarrow 0}$ [130], ver ciclo termodinâmico ilustrado na figura 4.21. Vários trabalhos tem sido publicado na literatura utilizando essa técnica de aniquilação do soluto em cálculo da energia livre de solvatação [131, 132].

Numa simulação computacional, a molécula **EM**, é caracterizada por um conjunto de parâmetros do potencial de interação como, q, ϵ e σ. Assim a molécula **EM**, pode ser representada por, $\mathbf{EM}^{(q,\epsilon,\sigma)}$, que representa a molécula com todos os seus parâmetros de interação. O procedimento adotado neste trabalho para o cálculo da diferença de energia livre de aniquilação, $\Delta G_{EM\rightarrow 0}$ foi dividido em três etapas de perturbação:

(i) $\mathbf{EM}^{(q,\epsilon,\sigma)} \rightarrow \mathbf{EM}^{(0,\epsilon,\sigma)}$ - Nessa etapa, as cargas atômicas da molécula emodina são aniquiladas, mantendo-se os parâmetros de Lennard-Jones fixos. Esse processo de aniquilação das cargas atômicas é dividido em vários cálculos da energia

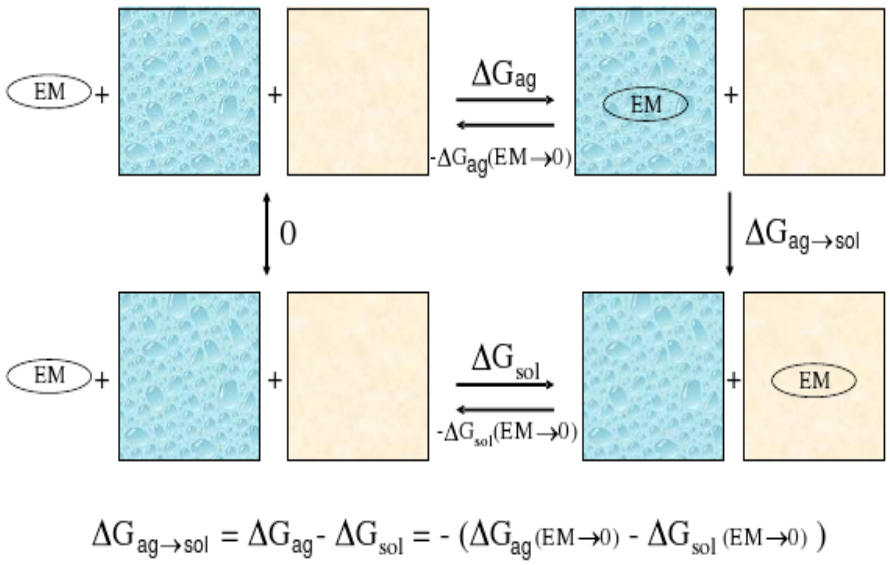

Figura 4.21: *Ciclo Termodinâmico descrevendo o cálculo da diferença de energia livre em água e outro solvente para a molécula de emodina.*

livre, onde o conjunto de cargas $\{q_i\}$ é reduzido gradativamente, de forma perturbativo, segundo as porcentagens: 100% → **95**% → 90% → **80**% → 70% → **55**% → 40% → **20**% → 0%. Usando o procedimento de simulação para os dois lados ("double-wide") [133], são necessariamente 4 simulações para realizar essa etapa: uma com a simulação realizada com o percentual de 95% das cargas, e perturbando o sistema simultaneamente para 100% e 90%; outra com a simulação com 80% e perturbando o sistema simultaneamente para 90% e 70%; outra com 55% perturbando para 70% e 40%; e a última simulação com 20% perturbando para 40% e 0%. O conjunto de cargas inicial está listada na tabela 4.7, onde utilizamos as cargas atômicas obtidas do campo de força (OPLS).

(ii) $\mathbf{EM}^{(0,\epsilon,\sigma)} \rightarrow \mathbf{EM}^{(0,0.01,\sigma)}$ - Nessa etapa, o poço atrativo do potencial de Lennard-Jones é aniquilado. Isso é realizado quando o conjunto de parâmetros $\{\epsilon_i\}$, é reduzido até um valor muito pequeno, a fim de não zerar todo o potencial, ver figura 4.22.

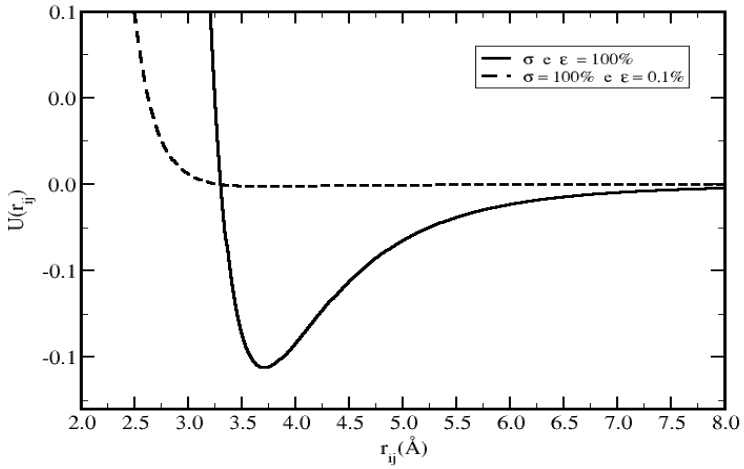

Figura 4.22: *Representação do potencial dispersivo de Lennard-Jones, para o conjunto de parâmetros* $\{\epsilon = 100\%, \sigma = 100\%\}$ *e* $\{\epsilon = 0.1\%, \sigma = 100\%\}$*, para o par de átomos C-O.*

Esse conjunto $\{\epsilon_i\}$ é perturbado segundo as porcentagens: 100% → **87.5**% → 75% → **62.5**% → 50% → **37.5**% → 25% → **12.5**% → 0.1%. Também utilizando o procedimento de simulação para dois lados. Portanto são realizadas 4 simulações em 87.5%, 62.5%, 37.5% e 12.5%.

(iii) $\mathbf{EM}^{(0,0.01,\sigma)} \rightarrow \mathbf{EM}^{(0,0,0)}$ - Nessa etapa completa-se o processo do cálculo do $\Delta G_{EM\rightarrow 0}$, com a aniquilação do conjunto $\{\sigma_i\}$. Os valores de $\{\sigma_i\}$ são perturbados segundo as porcentagens: **100**% → **75**% → **50**% → **25**% → 0%. Nesse caso não é utilizado o procedimento de dois lados, pois aparecem variações de energias bastante grandes, quando se aumenta o tamanho dos parâmetros $\{\sigma_i\}$. Desta forma, foram realizadas 4 simulações: uma em 100% perturbando para 75%; outra de 75% perturbando para 50%; outra de 50% para 25%; e por último de 25% para 0%.

Nas tabelas 4.15 e 4.16, observamos que os intervalos de perturbação estão adequados, uma vez que nenhum $|\Delta G(\lambda_{ij})|$ é superior ao limite recomendado de 8

Tabela 4.15: Energia livre de aniquilação em (kcal/mol) para o conjunto de cargas $\{q_i\}$, e o conjunto de parâmetros do potencial atrativo de Lennard-Jones, $\{\epsilon_i\}$, para a molécula de emodina em água, clorofórmio e metanol.

$\{q_i\}$		$\Delta G(\lambda_{ij})$		
λ_i	λ_j	água	clorofórmio	metanol
1.00	0.95	2.02±0.02	0.31±0.05	1.40±0.01
0.95	0.90	1.86±0.02	0.30±0.04	1.26±0.01
0.90	0.80	3.20±0.02	0.51±0.04	2.33±0.01
0.80	0.70	2.58±0.02	0.45±0.05	1.93±0.01
0.70	0.55	2.72±0.05	0.55±0.04	2.13±0.02
0.55	0.40	1.83±0.03	0.43±0.04	1.44±0.02
0.40	0.20	1.50±0.03	0.37±0.06	1.09±0.04
0.20	0.00	0.50±0.03	0.09±0.05	0.34±0.05
total		**16.21±0.22**	**3.01±0.37**	**11.92±0.17**
$\{\epsilon_i\}$				
1.000	0.875	1.71±0.01	2.38±0.01	1.81±0.00
0.875	0.750	1.82±0.01	2.53±0.01	1.92±0.00
0.750	0.625	1.94±0.01	2.70±0.01	2.03±0.01
0.625	0.500	2.09±0.01	2.90±0.00	2.17±0.01
0.500	0.375	2.30±0.01	3.22±0.01	2.40±0.01
0.375	0.250	2.64±0.01	3.69±0.01	2.73±0.02
0.250	0.125	3.22±0.01	4.49±0.01	3.24±0.01
0.125	0.001	4.49±0.04	7.60±0.03	5.43±0.03
total		**20.21±0.11**	**29.51±0.09**	**21.75±0.09**

Tabela 4.16: Energia livre de aniquilação em (kcal/mol) para o conjunto de parâmetros $\{\sigma_i\}$ do potencial de Lennard-Jones, para a molécula de emodina em água, clorofórmio e metanol.

$\{\sigma_i\}$		$\Delta G(\lambda_{ij})$		
λ_i	λ_j	água	clorofórmio	metanol
1.00	0.75	-3.78±0.18	-1.86±0.10	-1.15±0.02
0.75	0.50	-3.30±0.11	-1.87±0.04	-2.13±0.04
0.50	0.25	-4.83±0.10	-2.59±0.05	-1.87±0.05
0.25	0.00	-2.06±0.12	-1.16±0.02	-1.18±0.10
total		**-13.96±0.51**	**-7.48±0.21**	**-6.32±0.21**

$kcal/mol$. Valores acima desse valor recomendado tornam a convergência muito lenta das variações de energia livre, por isso devem ser evitadas.

Na tabela 4.17, mostramos um sumário da diferença de energia livre de solvatação, que é o negativo da diferença de energia livre de aniquilação, ver figura 4.21. Portanto, cada etapa da aniquilação, $\mathbf{EM}^{(q,\epsilon,\sigma)} \rightarrow \mathbf{EM}^{(0,\epsilon,\sigma)}$, $\mathbf{EM}^{(0,\epsilon,\sigma)} \rightarrow \mathbf{EM}^{(0,0.01,\sigma)}$ e $\mathbf{EM}^{(0,0.01,\sigma)} \rightarrow \mathbf{EM}^{(0,0,0)}$, está associado a um termo da diferença de energia livre de solvatação, que são os termos eletrostático, van der Waals e cavitação, respectivamente. A diferença de energia livre de solvatação total é obtida somando a diferença de energia livre de todas as contribuições resultantes em cada etapa, ou seja, $\Delta G_{total} = \Delta G_{elet} + \Delta G_{vdW} + \Delta G_{cav}$.

Observamos que a energia livre de solvatação associada ao termo eletrostático é maior em água, em torno de -16.2 $kcal/mol$, e menor em clorofórmio, em torno de -3.0 $kcal/mol$. Esses valores mostram que, em termos eletrostáticos é mais favorável solvatar a emodina em água que em clorofórmio. Já em metanol esse termo

Tabela 4.17: Sumário da energia livre de solvatação de uma molécula de emodina em água, metanol e clorofórmio nas condições normais de pressão e temperatura

$\Delta G(kcal/mol)$	água	metanol	clorofórmio
ΔG_{elet}	-16.21 ± 0.22	-11.92 ± 0.17	- 3.01 ± 0.37
ΔG_{vdW}	-20.21 ± 0.11	-21.75 ± 0.09	-29.51 ± 0.09
ΔG_{cav}	13.96 ± 0.51	6.32 ± 0.21	7.48 ± 0.21
ΔG_{total}	-22.46 ± 0.84	-27.35 ± 0.47	-25.04 ± 0.67

eletrostático é intermediário entre clorofórmio e água.

A energia livre solvatação associada ao termo atrativo de van der Waals, para os três solventes estudados, apresentam maior contribuição para a energia livre de solvatação total. Observamos que em clorofórmio, a atração de van der Waals é maior, em torno de $-29.5\ kcal/mol$, e em metanol, em torno de $-21.7\ kcal/mol$, e é menor em água, em torno de $-20.2\ kcal/mol$. Já a energia livre de solvatação associada ao termo de cavitação é maior em modulo para água, em torno de 13.96 $kcal/mol$ e com valores bem próximos em metanol, 6.32 $kcal/mol$ e clorofórmio, 7.48 $kcal/mol$. Mostrando que é mais difícil abrir uma cavidade na água que nos outros solventes. Esse resultado está de acordo com o esperado, devido as fortes ligações de hidrogênio existente na água.

Os valores obtidos do cálculo da energia livre de solvatação da emodina em água, metanol e clorofórmio nos asseguram que a emodina apresenta uma maior afinidade em metanol, depois em clorofórmio e por último, em água. Esses resultados vem corroborar com os resultados encontrados na literatura em que asseguram que a emodina dissolve melhor em solventes orgânicos [22, 25].

Nesta parte do trabalho, aproveitamos para comparar esses resultados obtidos

com perturbação termodinâmica com os resultados obtidos com modelo contínuo de solventes discutidos na seção 4.2.2. Na tabela 4.18, mostramos os valores da diferença de energia livre de solvatação da molécula emodina em água, clorofórmio e metanol, com o solvente descrito com o modelo contínuo polarizável (PCM).

Tabela 4.18: Valores da energia livre de solvatação de uma molécula de emodina em água, metanol e clorofórmio, com o solvente descrito com o modelo contínuo polarizável (PCM).

$\Delta G(kcal/mol)$	água	metanol	clorofórmio
ΔG_{elet}	-14.41	-13.74	-9.52
ΔG_{vdW}	-22.39	-19.34	-17.16
ΔG_{cav}	33.76	24.18	23.88
ΔG_{total}	-3.04	-8.90	-2.80

Comparando os valores obtidos com perturbação termodinâmica com os resultados obtidos com PCM, observamos que a energia livre de solvatação para os três termos, eletrostático, van der Waals e cavitação, concordam em sinais, mas com valores bem diferentes. Os resultados da energia livre de solvatação da emodina em água, metanol e clorofórmio com o modelo PCM, mostram que a emodina apresenta uma maior afinidade em metanol, o que concorda com os resultados com perturbação termodinâmica. Entretanto, mostra que essa molécula apresenta uma maior afinidade em água que em clorofórmio, em discordância com os resultados com perturbação termodinâmica.

Usando os resultados da perturbação termodinâmica para energia livre de solvatação , calculamos a energia livre de partição da emodina água/metanol, $\Delta G_{(ag \to met)} = -4.9 \pm 1.3 kcal/mol$ e água/clorofórmio, $\Delta G_{(ag \to cloro)} = -2.6 \pm 1.5 kcal/mol$. Esse cálculo da energia livre de partição, para um sistema água/solvente, $\Delta G_{(ag \to sol)}$ é dado

por:

$$\Delta G_{(ag \rightarrow sol)} = \Delta G_{sol} - \Delta G_{ag} \tag{4.1}$$

Na literatura, encontramos uma medida do coeficiente de partição (K_p) da emodina em água/octanol no valor de (13.93 ± 2.24)x10^3 [20]. Com esse coeficiente calculamos a energia livre de partição água/octanol, através da relação dada por:

$$\Delta G_{(ag \rightarrow oct)} = -RTln(K_p) \tag{4.2}$$

Como a medida foi realizada a temperatura de 30 ^{o}C, ou seja, 303 K, obtivemos $\Delta G_{(ag \rightarrow oct)} = -5.6 \pm 0.1 kcal/mol$. Comparando esse valor experimental com os valores teóricos, podemos observar que o valor teórico da energia livre de partição da emodina em água/metanol, é o que mais se aproxima do valor experimental. Apesar da medida ter sido realizada em octanol e o cálculo em metanol, o valor da energia livre nesses dois álcoois é bem próximo. Essa concordância podem ser compreendida, comparando alguns parâmetros conhecidos na literatura para esses solventes. Na tabela 4.19, os valores dos parâmetros $E_T(30)$ e ρ para os álcoois metanol e octanol estão

Tabela 4.19: Parâmetros dos solventes metanol, octanol, clorofórmio e água. Onde $E_T(30)$, corresponde um parâmetro de polaridade do solvente, segundo a molécula, *2,6-diphenyl-4-(2,4,6-triphenylpyridium-1-yl)*, ϵ, corresponde a constante dielétrica, n, o índice de refração e ρ a densidade em $g.cm^{-3}$.

solventes	$E_T(30)$	ϵ	n	ρ
metanol	55.4	33	1.33	0.791
octanol	48.1	10.3	1.43	0.824
clorofórmio	39.1	4.8	1.45	1.498
água	63.1	80	1.33	1.00

mais próximos do que, para os solventes octanol e metanol. Já os valores da constante dielétrica ϵ e índices de refração estão mais próximos para os solventes clorofórmio e octanol. Como a energia livre é calculada através da soma das contribuições, eletrostáticas, van der Waals e cavitação, existem uma competitividade entre esses termos para energia livre total. Assim esperamos acontecer para o conjunto de parâmetros dos solventes. Portanto justificar o porquê, através de parâmetros dos solventes, a energia livre de partição água/metanol e água/octanol, apresentam valores semelhantes não é conclusivo.

4.4 Espectro de absorção

4.4.1 Molécula isolada

O cálculo do espectro eletrônico de absorção foi realizado na geometria da emodina na conformação mais estável, obtida a partir de cálculo *ab initio* no nível B3LYP/6-31G*. A geometria dessa molécula está ilustrada na figura 4.23, com os parâmetros

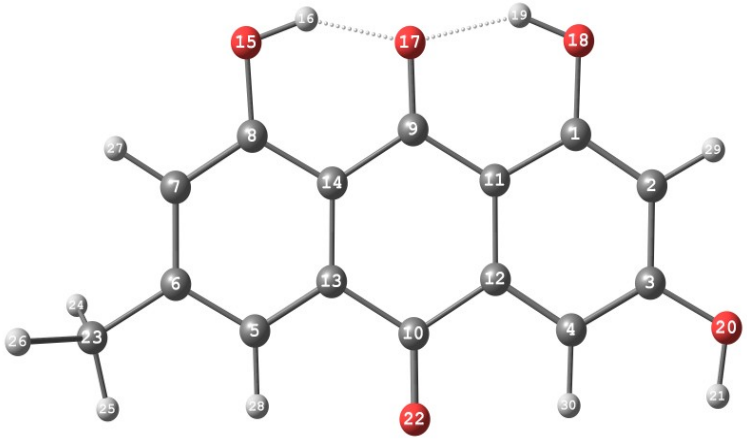

Figura 4.23: *Geometria da molécula emodina otimizada com B3LYP/6-31G*.*

geométricos apresentados na tabela 4.1. Essa geometria está em boa concordância com a geometria obtida por Nguyen *et al.* [25], com o nível de cálculo B3LYP/6-31G(d,p).

Na conformação da emodina otimizada realizamos cálculos do espectro eletrônico de absorção através do método INDO/CIS com parametrização espectroscópica implementado no programa ZINDO. Os resultados obtidos estão ilustrado na tabela 4.20 e figuras 4.24 e 4.25.

Tabela 4.20: Valores calculados para os máximos das bandas no espectro eletrônico de absorção da emodina isolada, em $10^3 cm^{-1}$, calculado com INDO/CIS. Os orbitais podem ser visualizados nas figuras 4.24 e 4.25. Em parêntese estão mostrados os valores em nm. E a abreviação "f. osc" representa a força do oscilador. Na referência [25], o cálculo do espectro foi calculado com o método B3LYP/6-31g(d,p)//PCM-TD-B3LYP/6-31+G(d,p).

tipo	orbitais	transição	f. osc.	ref [25]	f.osc. [25]
$n-\pi^*$	HOMO-3→LUMO+1	22.7(440)	$<10^{-4}$	22.2	0.18
$\pi-\pi^*$	HOMO→LUMO	28.5(351)	0.380	25.3; 26.0	0.03; 0.01
$\pi-\pi^*$	HOMO-1→LUMO	31.1(322)	0.005	31.4	0.11
$\pi-\pi^*$	HOMO-2→LUMO	34.4(291)	0.007	35.2	0.15
$\pi-\pi^*$	HOMO-1→LUMO+1	38.8(258)	0.087	37.2; 38.9	0.03; 0.28

Analisando os orbitais moleculares das cinco transições, mostradas na tabela 4.20, identificamos que a 1ª transição envolve os orbitais moleculares HOMO-3 e LUMO+1, onde HOMO é o orbital mais alto ocupado e o LUMO é o orbital mais baixo desocupado. Como pode ser observado na figura 4.24, o orbital molecular HOMO-3 envolve algumas ligações de carbono do anel central e majoritariamente orbitais não ligantes dos oxigênios. Tendo uma maior contribuição no O22. Sendo assim, classificamos esse orbital do tipo n. Já o orbital LUMO+1, (ver figura 4.24), é perpendicular ao plano da molécula e está delocalizado sobre toda ela. Portanto dado essas características classificamos esse orbital molecular do tipo π^*. Assim, identificamos essa 1ª transição como $n-\pi^*$.

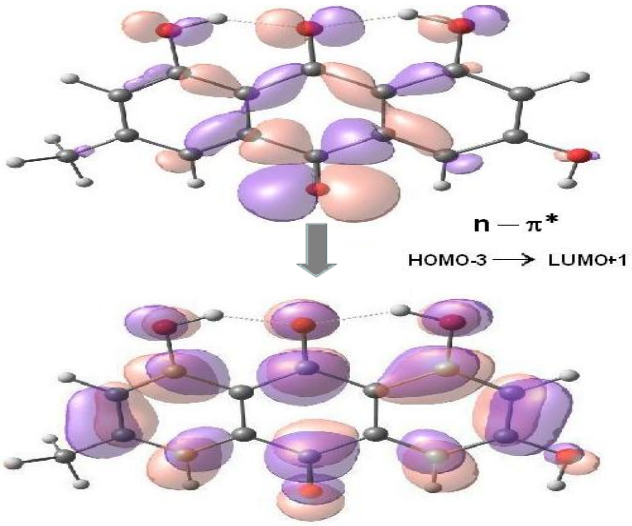

Figura 4.24: *Orbitais moleculares envolvidos na transição $n - \pi^*$ da emodina.*

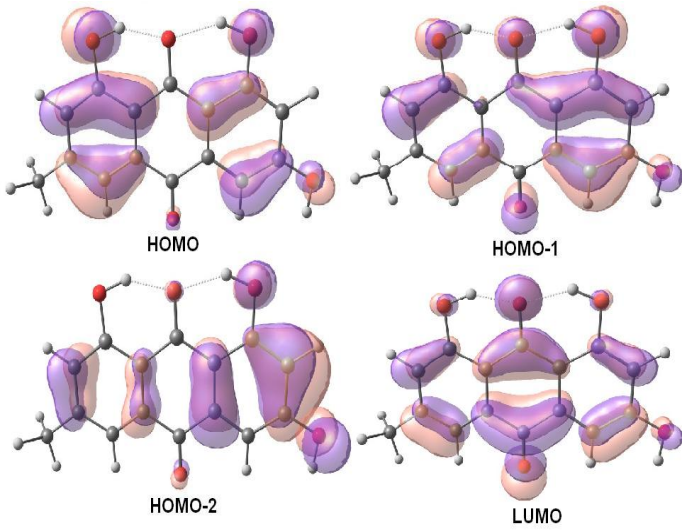

Figura 4.25: *Orbitais moleculares envolvidos nas transições $\pi - \pi^*$ intensas da emodina.*

As demais transições mostradas na tabela 4.20, envolvem os orbitais moleculares ocupados HOMO, HOMO-1 e HOMO-2 e virtuais LUMO e LUMO+1, mostrados nas figuras 4.24 e 4.25. Todos esses orbitais são perpendiculares ao plano da molécula e apresentam uma grande delocalização. Portanto são orbitais π(ocupados) e π^*(desocupados). Assim, as 4 últimas transições são todas $\pi - \pi^*$.

Comparando os valores dos máximos das bandas com o método INDO/CIS, para emodina isolada, com os do trabalho de Nguyen *et al.* [25], obtidos com o método B3LYP/6-31g(d,p)//PCM-TD-B3LYP/6-31+G(d,p), para molécula de emodina em etanol, observamos que o máximo da 1ª banda, se encontra em 22.7x10$^3 cm^{-1}$, com a força de oscilador da ordem de 10^{-5} para o método INDO/CIS, enquanto no trabalho de Nguyen, encontram essa banda em 22.2x10$^3 cm^{-1}$, portanto com o valor bem próximo do obtido com método semi-empírico. Já a força do oscilador, obtido por Nguyen é bem maior (da ordem de 10^{-1}), e eles classificam essa 1ª transição do tipo $\pi - \pi^*$. Experimentalmente os valores dessa 1ª transição são 22.6, 22.7 [25], 22.9 e 23.0x10$^3 cm^{-1}$, para os solventes clorofórmio, etanol, metanol e água respectivamente. Esses valores mostram um deslocamento da banda para maiores energias (deslocamento para o azul) com o aumento da polaridade do solvente e esse comportamento é típico de transição $n - \pi^*$. Essa discrepância na classificação da 1ª transição precisa ser mais cuidadosamente investigada com a utilização de outros funcionais de densidade. Já as demais transições estão todas com o mesmo tipo $\pi - \pi^*$, com os valores dos máximos das bandas em boa concordância com nossos resultados. As forças de oscilador não correspondem as intensidades de absorção, mas são proporcionais.

Comparamos também os valores dos máximos das bandas calculados com o método INDO/CIS, com nossas medidas experimentais para emodina em solvente de baixa polaridade (clorofórmio), ver tabela 3.1. Observamos que os valores teóricos estão em boa concordância com os experimentais, onde obtemos teoricamente a 1ª banda em 22.7x10$^3 cm^{-1}$, e medimos ela em 22.6x10$^3 cm^{-1}$. Já para 4ª e 5ª bandas, obtemos elas na regigão de 34.4x10$^3 cm^{-1}$ e 38.8x10$^3 cm^{-1}$, enquando medinos essas na região de 34.5x10$^3 cm^{-1}$ e 37.3x10$^3 cm^{-1}$ respectivamente.

Na figura 4.26, mostramos o gráfico da medida do espectro eletrônico de absorção da molécula emodina em clorofórmio na concentração de 0.1mM, e os valores do espectro calculados com método INDO/CIS para essa molécula isolada. Nesse gráfico

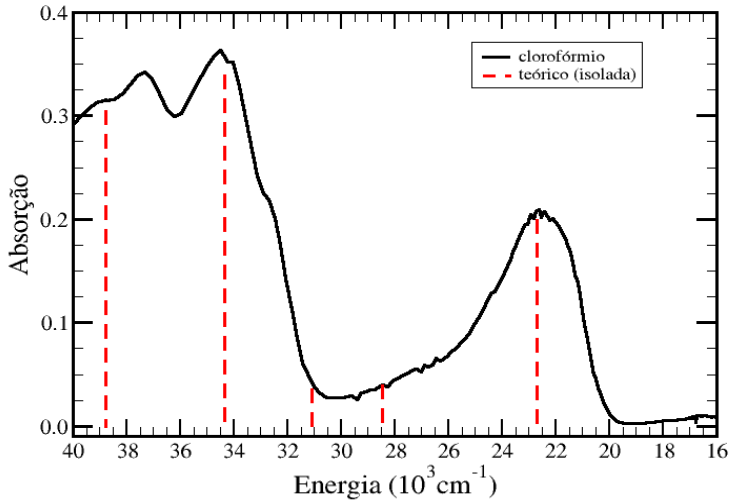

Figura 4.26: *Gráfico do espectro eletrônico de absorção da molécula emodina em clorofórmio na concentração de 0.1mM (linha sólida), com os valores dos máximos das bandas calculados com método INDO/CIS para essa molécula isolada (linha verticais tracejadas). As alturas das linhas verticais não representam a intensidade da transição calculada.*

a altura das linhas verticais não representa a intensidade da transição calculada. Elas foram traçadas até a altura do espectro em clorofórmio, apenas para ilustrar a boa concordância das energias de transição calculadas.

Experimentalmente existe evidência que quando há substituição química no O22 [134], a 1ª banda em 22.7x$10^3 cm^{-1}$, desaparece. Isso mostra que os orbitais que calculamos estão localizados corretamente.

4.4.2 Molécula em solução

Usando a geometria da emodina na conformação mostrada na figura 4.23, realizamos cálculos do espectro eletrônico de absorção, usando o método INDO/CIS implementado no programa ZINDO, em meios solventes a fim de analisar o efeito do solvente nos deslocamentos das bandas. Esses cálculos foram realizados com a molécula emodina em meio aquoso, em clorofórmio e em metanol, com a descrição do

solvente através do modelo contínuo(SCRF).

Nas tabelas 4.21, 4.22 e 4.23, estão os resultados dos cálculos do espectro eletrônico de absorção da emodina em água, clorofórmio e metanol. Analisando esses resultados, observamos que o efeito do solvente no espectro eletrônico de absorção não foi capaz de mudar o caráter da transição, mantendo a 1ª transição como $n-\pi^*$ e 2ª - 5ª transições como $\pi-\pi^*$.

Tabela 4.21: Valores calculados para os máximos das bandas no espectro eletrônico de absorção da emodina em água em ($10^3 cm^{-1}$), calculado com INDO/CIS(SCRF). Em parêntese estão mostrados os valores em nm.

tipo	transição	água	experimental
$n-\pi^*$	HOMO-3→LUMO+1	22.5(444)	23.0(434)
$\pi-\pi^*$	HOMO→LUMO	28.6(350)	- - - -
$\pi-\pi^*$	HOMO-1→LUMO	31.2(321)	- - - -
$\pi-\pi^*$	HOMO-2→LUMO	34.3(291)	- - - -
$\pi-\pi^*$	HOMO-1→LUMO+1	38.7(259)	37.6(266)

Embora existam muitos trabalhos teóricos na literatura abordando o estudo do espectro eletrônico de absorção da emodina [25] [27] [29] [28] [120] [135], eles classificam a 1ª transição como $\pi-\pi^*$. Entretanto, Kristine *et al.* [136], classificou essa transição como $n-\pi^*$ para a molécula antralin[1] na região de 23.8x$10^3 cm^{-1}$ (420 nm). Analisando as tabelas 4.20 e 4.23, podemos ver que a transição $n-\pi^*$, calculada em nosso trabalho se encontra na região de 22.7, 22.5, 22.6 e 22.5x$10^3 cm^{-1}$ (440, 444, 443 e 444 nm) para emodina isolada, em água, clorofórmio e metanol respectivamente. Portanto verificamos um efeito muito pequeno para o solvente tanto experimental como teórico.

[1] Anthralin (1,8-dihidroxi-9(10H-antracenone) é um fármaco de estrutura química semelhante da emodina, sem o O22.

Tabela 4.22: Valores calculados para os máximos das bandas no espectro eletrônico de absorção da emodina em clorofórmio em ($10^3 cm^{-1}$), calculado com INDO/CIS(SCRF). Em parêntese estão mostrados os valores em nm.

tipo	transição	clorofórmio	experimental
$n-\pi^*$	HOMO-3→LUMO+1	22.6(443)	22.6(442)
$\pi-\pi^*$	HOMO→LUMO	28.5(351)	- - - -
$\pi-\pi^*$	HOMO-1→LUMO	31.1(321)	- - - -
$\pi-\pi^*$	HOMO-2→LUMO	34.3(291)	34.5(290)
$\pi-\pi^*$	HOMO-1→LUMO+1	38.7(258)	37.3(268)

Tabela 4.23: Valores calculados para os máximos das bandas no espectro eletrônico de absorção da emodina em metanol em ($10^3 cm^{-1}$), calculado com INDO/CIS(SCRF). Em parêntese estão mostrados os valores em nm.

tipo	transição	metanol	experimental
$n-\pi^*$	HOMO-3→LUMO+1	22.5(444)	22.9(436)
$\pi-\pi^*$	HOMO→LUMO	28.6(350)	- - - -
$\pi-\pi^*$	HOMO-1→LUMO	31.2(321)	- - - -
$\pi-\pi^*$	HOMO-2→LUMO	34.3(291)	34.5(290)
$\pi-\pi^*$	HOMO-1→LUMO+1	38.7(259)	37.4(267)

As quatros transições $\pi - \pi^*$, são observada no trabalho de Nguyen *et al.* [25], na região de 26.0, 31.4, 35.2 e 37.24x10$^3 cm^{-1}$ (385, 318, 284 e 269 nm) para a 2^a, 3^a, 4^a e 5^a transição. Observando as tabelas 4.21, 4.22 e 4.23, podemos ver que nossos resultados obtidos para essas transições em diferentes meios estão em boa concordância com os resultados encontrado na literatura e com os resultados obtidos experimentalmente, ver tabela 3.1 e figura 3.3. O efeito solvente, observado nos deslocamento das bandas no espectro eletrônico de absorção da emodina é bem pequeno também para essas bandas. Portanto o efeito de polarização do meio a emodina é desprezível.

Adicionalmente, na tentativa de melhorar o modelo de solvente, selecionamos 75 configurações estatisticamente descorrelacionadas de nossa simulação MC e separamos a molécula de emodina rodeada pelas moléculas de solvente até a terceira camada de solvatação, ou seja, 150 moléculas de água, 200 de clorofórmio e 170 de metanol para realizarmos cálculos quânticos do espectro eletrônico com o método INDO/CIS. Consideramos nesses cálculos o solvente de forma explícita e com cargas pontuais. Porém com o solvente representado com cargas pontuais não conseguirmos obter mudanças significativas das anteriormente obtidas com o modelo contínuo de solvente SCRF. Já com a inclusão das moléculas explícitas obtivemos um deslocamento na 1^a banda para 23.7x10$^3 cm^{-1}$ (440 nm) para a solvatação aquosa. Enquanto que para as outras bandas e solventes não obtivemos mudanças significativas.

Desta forma, evidenciamos que experimentalmente a sensibilidade ao solvente do espectro eletrônico de absorção da emodina é devida muito mais ao processo de desprotonação da mesma do que propriamente dito um efeito do solvente em sua estrutura eletrônica. Pois separando os resultados em pH ácido (garantindo que temos apenas a forma neutra da emodina), obtivemos 23.0x10$^3 cm^{-1}$ (434 nm) em água, 22.6x10$^3 cm^{-1}$ (442 nm) em clorofórmio e 22.9x10$^3 cm^{-1}$ (436 nm) em metanol para a 1^a banda, 34.5x10$^3 cm^{-1}$ (290 nm) em clorofórmio e metanol para a 2^a banda e 37.6, 37.4 e 37.3x10$^3 cm^{-1}$ (266, 267 e 268 nm) para 3^a banda em água, clorofórmio e

metanol respectivamente.

Do ponto de vista teórico os resultados obtidos para a molécula isolada já apresentam concordância com os valores experimentais, 22.7 e 34.4 38.8x$10^3 cm^{-1}$ (440, 291 e 258 nm). Colocando os efeitos do solvente nos cálculos teóricos não identificamos mudanças significativas desses valores tanto com modelos contínuo como modelo discreto (explícito e apenas eletrostático com cargas pontuais.)

Sendo assim, evidenciamos que o espectro eletrônico de absorção da molécula de emodina pode ser um bom sensor de pH do ambiente, porém não deve ser utilizado para identificar mudanças do ambiente molecular dessa molécula.

Capítulo 5

Conclusões e Perspectivas

Neste trabalho estudamos as propriedades estruturais e eletrônicas da molécula emodina isoladamente e em diferentes meios, água, clorofórmio e metanol, do ponto de vista experimental (espectro UV-Vis) e teórico, através de cálculos quânticos com funcional de densidade ($B3LYP$), conjunto de função base de Pople (6-31G$*$), modelo contínuo polarizável (PCM) e simulações computacionais em meio líquido. Estudos da molécula isolada mostraram que a mudança orientacional nas três hidroxilas provoca a formação de 2 ligações de hidrogênio intramoleculares fortes e uma diminuição no dipolo de 5.5 a 1.7 D.

Antes de iniciar o estudo das propriedades da emodina em meio líquido, testamos o conjunto de cargas atômicas (parte mais sensível do potencial de interação) do campo de força OPLS comparativamente as cargas obtidas para a conformação mais estável e média sobres vários confôrmeros. Usando simulações computacionais com os métodos de Dinâmica Molecular(MD) e Monte Carlo(MC), concluímos que os conjuntos de cargas são equivalentes e optamos em usar o OPLS porque pretendemos dar continuidade a esse estudo em membranas, e OPLS já está bem estabelecido na literatura.

O estudo da emodina com Dinâmica Molecular mostrou que as 2 ligações de hidrogênio intramoleculares são raramente quebradas devido as interações com a água,

o que estabiliza sua geometria com um momento de dipolo aproximadamente 3 D. Portanto a pouca capacidade de formar ligações de hidrogênio com a água e seu baixo dipolo lhe atribuem um caráter hidrofóbico. As simulações com a emodina rígida (MC) apresentaram resultados análogos aos obtidos com ela flexível (MD). Portanto o modelo rígido é um bom modelo para estudar as interações da emodina com solventes. Em ambos os métodos, a interação da hidroxila O20H21 com a água foi mais forte comparativamente com as outras hidroxilas. Portanto a hidroxila O20H21 é mais vulnerável a uma desprotonação, o que está em concordância com a proposta experimental da 1ª desprotonação na posição 3 [22].

Usando o modelo rígido com o conjunto de cargas OPLS, calculamos a diferença de energia livre de solvatação da emodina em água, clorofórmio e metanol. Como esperado encontramos que a emodina apresentou:

(i) uma maior interação eletrostática com a água,

(ii) uma maior cavitação também na água,

(iii) uma melhor solvatação em metanol,

Comparando a solvatação em metanol e clorofórmio, a emodina apresentou menor cavitação ($\Delta G_{cav} = -1.16\ kcal/mol$), maior interação eletrostática ($\Delta G_{elet} = -8.91\ kcal/mol$), e menor atração de van der Waals ($\Delta G_{vdW} = 7.76\ kcal/mol$) em metanol. Sendo devido a interação eletrostática que a emodina solvata melhor em metanol.

Calculamos a energia livre de partição da emodina água/metanol, $\Delta G_{(ag \to met)} = -4.9 \pm 1.3 kcal/mol$ e água/clorofórmio, $\Delta G_{(ag \to cloro)} = -2.6 \pm 1.5 kcal/mol$. Comparando o valor da energia livre de partição água/metanol, com o valor experimental encontrado na literatura, água/octanol ($\Delta G_{(ag \to oct)} = -5.6 \pm 0.1 kcal/mol$), obtivemos um valor teórico próximo do valor experimental.

Realizamos medidas do espectro eletrônico de absorção da emodina em água, clorofórmio e metanol, obtivemos que essa molécula é caracterizada por 3 bandas em 23.0x10$^3 cm^{-1}$ (434nm) em água, 22.6x10$^3 cm^{-1}$ (442nm) em clorofórmio e 22.9x10$^3 cm^{-1}$ (436nm) em metanol para a 1^a banda, 34.5x10$^3 cm^{-1}$ (290nm) em clorofórmio e metanol para a 2^a banda e 37.6, 37.4 e 37.3x10$^3 cm^{-1}$ (266, 267 e 268nm) para 3^a banda em água, clorofórmio e metanol respectivamente. Para comparar com essas medidas, calculamos os deslocamentos das bandas do espectro eletrônico de absorção da emodina na conformação mais estável (formando 2 ligações de hidrogênio intramoleculares) com o método INDO/CIS para a molécula isolada e em água, clorofórmio e metanol. Como principais resultados, obtivemos que tanto o espectro UV-Vis experimental como o teórico mostrou ser pouco sensível ao solvente. Porém deve-se tomar cuidado com o pH da solução, uma vez que em pH neutro a forma desprotonada coexiste com a forma neutra.

Os valores obtidos para os máximos das 3 bandas do espectro UV-Vis da emodina isolada, foram 22.7, 34.4 e 38.8x10$^3 cm^{-1}$ (440, 291 e 258 nm), para 1^a, 2^a e 3^a banda respectivamente. Portanto os valores teóricos para a molécula isolada já da uma boa concordância com o experimental. Com o modelo contínuo SCRF não se identifica mudanças significativas nem com modelo explícito de solvente. Assim, concluímos que a estrutura eletrônica da emodina não é muito sensível ao efeito do solvente e, portanto o espectro eletrônico de absorção não é uma boa propriedade para identificar mudanças do ambiente molecular dessa molécula, mais sim mudanças no pH.

Referências Bibliográficas

[1] W. C. Evans. *Treas and Evans Pharmacognosy.* W.B. Saunders, London, (1996).

[2] J. Bruneton. *Pharmacognosy, phytochemistry, medical plants.* Intercept Ltd and Lavoisier Publishing, Paris, (1999).

[3] B. A. P. Van den Gorkom, E. G. E. de Vries, A. Karrenbeld and J. H. Kleibeuker. *Anthranoid laxatives and their potential carcinogenic effects. Alimentary Pharmacology and Therapeutics.* **13**, 443 (1999).

[4] H. Anke, I. Kolthoum and H. Laatsch. *Metabolic products of microorganisms. 192. The anthraquinones of the Aspergillus glaucus group. II. Biological activity. Archives of Microbiology.* **126**, 231 (1980).

[5] T. Le Van. *Emodin a fungal metabolite and the effects of emodin on the growth of some soil microorganisms. Acta Agraria et Silvestria Seriea Agraria.* **23**, 235 (1984).

[6] W. H. Wang and J. G. Chung. *Emodin-induced inhibition of growth and DNA damage in the Helicobacter pylori. Current Microbiology.* **35,** 262 (1997).

[7] U. P. Singh, K. P. Singh, S. P. Singh and V. B. Ram. *Effect of emodin isolated from Rhamnus triquetra on spore germination of some fungi. Fitop. Brasileira.* **17**, 420 (1992).

[8] H. H. Wang. *Antitrichomonal action of emodin in mice. J. of Ethnopharmac.* **40**, 111 (1993).

[9] D. L. Barnard, J. H. Huffman, J. L. Morris, S. G. Wood, B G. Hughes and R. W. Sidwell. *Evaluation of the antiviral activity of anthraquinones, anthrones and anthraquinone derivatives against human cytomegalovirus. Antiviral Research.* **17**, 63 (1992).

[10] K. Kawai, T. Kato, H. Mori, J. Kitamura, Y. Nozawa. *A comparative study on cytotoxicity and biochemical properties of anthraquinone mycotoxins modin and skyrin from Penicillium islandium. Toxicol. Lett.* **20**, 155 (1984).

[11] A. Kumar, S. Dhawan and B.B. Aggarwal. *Emodin (3-methyl-1,6,8-trihydroxyanthraquinone) inhibits TNF-induced NF-kappaB activation, IkappaB degradation, and expression of cell surface adhesion proteins in human vascular endothelial cells. Oncogene.* **17**, 913 (1998).

[12] Y.C. Kuo, H.C. Meng and W.J. Tsai. *Regulation of cell proliferation, inflammatory cytokine production and calcium mobilization in primary human T lymphocytes by emodin from Polygonum hypoleucum Ohwi. Inflamm. Res.* **50**, 73 (2001).

[13] Y.C. Chen, S.C. Shen, W.R. Lee, E.L. Hsu, H.Y. Lin, C.H. Ko and S.W. Tseng. *Emodin induces apoptosis in human promyeloleukemic HL-60 cells accompanied by activation of caspase 3 cascade but independent of reactive oxygen species production. Biochem. Pharmacol.* **64**, 1713 (2002).

[14] G. Srinivas, R.J. Anto, P. Srinivas, S. Vidhyalakshmi, V.P. Senan and D. Karunagaran. *Emodin induces apoptosis of human cervical cancer cells through poly (ADP-ribose) polymerase cleavage and activation of caspase-9. Eur. J. of Pharmacol.* **473**, 117 (2003).

[15] T.C. Chan, C.J. Chang, N.M. Koonchanok and R.L. Geahlen. *Selective inhibition of the growth of ras-transformed human bronchial epithelial cells by emodin a protein-tyrosine kinase. Biochem. Biophys. Res. Commun.* **193**, 1152 (1993).

[16] S. P. D. Dwivedi, V. B. Pandey, A. H. Shah and Y. B. Rao. *Chemical constituents of Rhammuns procumbens and pharmacological actions ofemodin. Phytotherapy Research.* **2**, 51, (1988).

[17] R. K. Goel, G. Das Gupta, S. N. Ram and V. B. Pandey. *Antiulcerogenic and anti-inflammatory effects of emodin, isolated from Rhammus triquerta wall. Indian J. of Exp. Biolog.* **29**, 230 (1991).

[18] X. M. Zhou and Q. H. Chen. *Biochemical study of chinese rhubarb XXII. Inhibitory effect of anthraquinone derivatives on sodium-potassium-ATPase of a rabbit renal medulla and their diuretic actin. Acta Phamacologica Sinica.* **23**, 17 (1988).

[19] E. L. Duarte, T. R. Oliveira, D. S. Alves, V. Micol and M. T. Lamy. *On the interaction of the anthraquinone barbaloin with negatively charged DMPG bilayers. Langmuir.* **24**, 4041, (2008).

[20] D.S. Alves, L. Pérez-Fons, A. Estepa and V. Micol. *Membrane-related effects underlying the biological activity of the anthraquinones emodin and barbaloin. Biochem. Pharm.* **68**, 549 (2004).

[21] R. H. Thomson, *Naturally Occurring Quinones*, 2nd ed. Academic Press, London, (1971).

[22] T. Pal and N. R. Jana. *Emodin (1,3,8-trihydroxy-6-methylanthraquinone): A spectrophotometric reagent for the determination of beryllium(II), magnesium(II) and calcium(II). Analyst.* **118**, 1337 (1993).

[23] L. H. Keith and D. B. Walters. *National Toxicology Program's Chemical Solubility Compendium*. Lew. Publish. United States, (1992).

[24] D. Wang, G. Yang and X. Song. *Determination of pKa values of anthraquinone compounds by capillary electrophoresis. Electroph.* **22**, 464 (2001).

[25] S. C. Nguyen, B. K. V. Hansen, S. V. Hoffmann and J. Spanget-Larsen. *Eletronic states of emodin and its conjugate base. Synchrotron linear dichroism spectroscopy and quantum chemical calculations. Chem. Phys.* **352**, 167 (2008).

[26] V. Y. Fain, B. E. Zaitserv and M.A. Ryabov. *Tautomerism of the natural anthraquinones physcion and emodin and analogs. Chem. Natural Comp.* **41**, 411 (2005).

[27] V. Y. Fain, B. E. Zaittsev and M. A. Ryabov. *Anthraquinones tautomerism. Hydroxy-substituted anthraquinones. Russ. J. Org. Chem.* **43**, 1460 (2007).

[28] D. Jacquemin, X. Assfeld, J. Preat and E. A. Perpete. *Comparison of theoretical approaches for predicting the UV/Vis spectra of anthraquinones. Mol. Phys.* **105**, 325 (2007).

[29] V. Y. Fain, B. E. Zaittsev and M. A. Ryabov. *Tautomerism an rotation isomerism of 1,4-diamino-9,10-antraquinone. Russ. J. General Chem.* **78**, 2167 (2008).

[30] C. Reichardt. *Solvatochromic dyes as solvent polarity indicators. Chem. Rev.* **94**, 2319 (1994).

[31] L. Onsager. *Electric moments of molecules in liquids. J. Chem. Soc.* **58**, 1486 (1936).

[32] J. G. Kirkwood. *The interaction of ions in an ionic medium. Chem. Phys.* **2**, 351 (1934).

[33] D. Rinaldi and J. L. Rivail. *Polarisabilites moléculaires et effet diélectrique de milieu à l'état liquide. Étude théorique de la molécule d'eau et de ses diméres. Theor. Chim. Acta.* **32**, 57 (1973).

[34] D. Rinaldi and J. L. Rivail. *A quantum chemical approach to dielectric solvent effects in molecular liquids. Chem. Phys.*. **18**, 233 (1976).

[35] O. Tapia and O. Goscinski. *Self-consistent reaction field theory of solvent effects. Mol. Phys.* **29**, 1653 (1975).

[36] J. Tomasi and M. Persico. *Molecular Interactions in Solution: An Overview of Methods Based on Continuous Distributions of the Solvent. Chem. Rev.* **94**, 2027, (1994).

[37] S. Chalmet, D. Rinaldi and M.F. Ruiz-López. *A QM/MM/continuum model for computations in solution: Comparison with QM/MM molecular dynamics simulations. Inter. J. Quantum Chem.* **84**, 559 (2001).

[38] P. Bandyopadhyay, M. S. Gordon, B. Mennucci and J. Tomasi. *An integrated effective fragment—polarizable continuum approach to solvation: Theory and application to glycine. J. Chem. Phys.* **116** , 5023 (2002).

[39] S. Miertus, E. Scrocco and J. Tomasi.*Electrostatic Interaction of a Solute with a Continuum. A Direct Utilization of ab initio Molecular Potentials for the Prevision of Solvent Effects. Chem. Phys.* **55**, 117 (1981).

[40] N. Metropolis, A. W. Rosenbluth, M. N. Rosenbluth, A. H. Teller and E. Teller. *Equation of state calculations by fast computing machines. J. Chem. Phys.* **21**, 1087 (1953).

[41] B. J. Alder and T. E. Wainwright. *Phase transition for a hard sphere system. J. Chem. Phys.* **27**, 1208 (1957).

[42] B. J. Alder and T. E. Wainwright. *Studies in Molecular Dynamics. I. general method. J. Chem. Phys.* **31**, 459 (1959).

[43] J. Gao. *Methods and applications of combined quantum mechanical and molecular mechanical potentials. Rev. Comp. Chem.* **7**, 119 (1996).

[44] T. N. Truong and E. V. Stefanovich. *Development of a perturbative approach for Monte Carlo simulations using a hybrid ab initio QM/MM method. Chem. Phys. Lett.* **256**, 348 (1996).

[45] S. Canuto and K. Coutinho. *Solvent effects from a sequential Monte Carlo - quantum mechanical approach. Adv. Quantum Chem.* **28**, 89 (1997).

[46] K. Coutinho, M. J. de Oliveira and S. Canuto *Sampling configurations in Monte Carlo simulations for quantum mechanical studies of solvent effects. Int. J. Quantum Chem.* **66**, 249 (1998).

[47] M. C. P. Lima, K. Coutinho, W. R. Rocha and S. Canuto. *Reaction mechanism and tautomeric equilibrium of 2-Mercaptopyridine in gas phase and in aqueous solution: A combined monte carlo and quantum mechanics study. J. Phys. Chem.* A **110**, 7253 (2006).

[48] K. J. de Almeida, K. Coutinho, W. B. de Almeida, W. R. Rocha and S. Canuto. *A Monte Carlo - Quantum Mechanical study of the solvatochromism of pyrimidine in water and in carbon tetrachloride. Phys. Chem. Chem. Phys.* **3**, 1583 (2001).

[49] M. P. Allena and D. J. Tildesley. *Computer Simulation of Liquids.* Claredon Press, London, (1987).

[50] H. Müller-Krumbhaar and K. Binder. *Dynamic properties of the Monte Carlo method in statistical mechanics. J. Stat. Phys.* **8**, 1 (1973).

[51] C. Cohen-Tannoudji, B. Diu and F. Laloë. *Quantum Mechanics,volume one*. J. Wiley&Sons , Paris (1973)

[52] D. Rayner and D.R. Hartree. *The calculation of atomic structure*. J. Wiley, New York (1957).

[53] W. Kohn and P. Hohenberg. *Inhomogeneous electron gas. Phys. Rev.*. **136**, B864 (1964)

[54] M. Born and J. R. Oppenheimer. *Zur Quantentheorie der Molekeln. Ann. Phys. Leipzig*. **84**, 457 (1927).

[55] J. D. M. Vianna, A. Fazzio and S. Canuto. *Teoria Quântica de Moléculas e Sólidos, Simulação Computacional*. Livraria da Física, São Paulo, (2004).

[56] N. H. Morgon e K. Coutinho. (Eds). *Métodos de Química Teórica e Modelagem Molecular*. Livraria da Física, São Paulo, (2007).

[57] F. L. Pilar. *Elementary Quantum Chemistry*. Dover Publications, INC, Mineola, New York, (1990).

[58] P. Atkins and R. Friedman. *Molecular Quantum Mechanics*. Oxford University Press, New York (2005).

[59] S. T. Thornton and J. B. Marion. *Classical Dynamics of Particles and Systems*. Thomson Brooks/Cole, Belmont (2004).

[60] J. C. Slater. *The theory of complex spectra. Phys. Rev.* **34**, 1293 (1929).

[61] C. C. J. Roothaan. *New Developments in Molecular Orbital Theory. Rev. Mod. Phys.* **26**, 69 (1951).

[62] H. C. Georg. *Efeitos do Meio em Propriedades Conformacionais e Eletrônicas de Moléculas*. Tese de doutoramento, Universidade de São Paulo, São Paulo (2006).

[63] R. Pariser and R. G. Parr. *A semi-empirical theory of the electronic spectra and electronic structure of complex unsaturated molecules. I. J. Chem. Phys.* **21**, 466 (1953).

[64] R. Hoffmann. *An extended Hückel theory. I. Hydrocarbons. J. Chem. Phys.* **39**, 1397 (1963).

[65] J. A. Pople, D. P. Santry and G. A. Segral. *Approximate self-consistent molecular orbital theory. I. Invariant procedures. J. Chem. Phys.* **43**, S129 (1965).

[66] J. A. Pople and G. A. Segral. *Approximate self-consistent molecular orbital theory. II. Calculations with complete neglect of differential overlap. J. Chem. Phys.* **43**, S136 (1965).

[67] J. A. Pople and G. A. Segral. *Approximate self-consistent molecular orbital theory. III. CNDO results for AB_2 and AB_3 systems. J. Chem. Phys.* **44**, 3289 (1966).

[68] J. A. Pople, D. L. Beveridge and P. A. Dobosh. *Approximate self-consistent molecular orbital theory. V. Intermediate neglect of differential overlap. J. Chem. Phys.* **47**, 2026 (1967).

[69] W. Thiel. *The MNDOC method, a correlated version of the MNDO model. J. Am. Chem. Soc.* **103**, 1413 (1981).

[70] J. E. Ridley and M. C. Zerner. *An intermediate neglect of differential overlap technique for spectroscopy: pyrrole and the azines. Theor. Chim. Acta.* **32**, 111 (1973).

[71] J. E. Ridley and M. C. Zerner. *Triplet states via intermediate neglect of differential overlap: benzene, pyridine and the diazines. Theor. Chim. Acta.* **42**, 223 (1976).

[72] M. Malagoli and W. Thiel. *A semiempirical approach to nonlinear optical properties of large molecules at the MNDO and MNDO/d level. Chem. Phys.* **203**, 73 (1996).

[73] J. Del Bene and H. H. Jaffé. *Use of the CNDO method in spectroscopy. I. benzene, pyridine, and the diazines. J. Chem. Phys.* **48**, 1807 (1968).

[74] M. C. Zerner. ZINDO: A semi-empirical program package. University of Florida, Gainesville, FL 32611.

[75] S. S. de Albuquerque. *Violação da Teoria de Escala em Sistemas Unidimensionais com Desordem Diluída e Distemas com Acoplamentos de Longo-Alcance.* Tese de doutoramento. Universidade Federal de Alagoas, Maceió (2006).

[76] C. Kittel. *Introduction to Solid State Physics.* John Wiley and Sons, New York (1968).

[77] H. A. Duarte. *Índice de reatividade química a partir da teoria do funcional de densidade: formalismo e perspectivas. Químimca Nova.* **24**, 501, (2001).

[78] W. Kohn and L. J. Sham. *Self-consistent equations including exchange and correlation effects.* **140**, A1133 (1965).

[79] A. D. Becke. *Density-functional exchange-energy approximation with correct asymptotico behavior. Phys. Rev. A* **38**, 3098 (1988).

[80] A. D. Becke. *Density-functional thermochemistry. I. The effect of the exchange-only gradient correction. J. Chem. Phys* **96**, 2155 (1992).

[81] A. D. Becke. *Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. J. Chem. Phys.* **98**, 5648 (1993).

[82] J. P. Perdew, K. Burke and M. Ernzenhof. *Generalized Gradient Approximation Made Simple. Phys. Rev. lett.* **77**, 3865 (1996).

[83] A. D. Becke. *Density-functional thermochemistry. II. The effect of the Perdew-Wang generalized-gradient correlation correction. J. Chem. Phys* **97**, 9173 (1992).

[84] J. P. Perdew. *Density-functional approximation for the correlation energy of the inhomogeneous electron gas. Phys. Rev. B* **33**, 8822 (1986).

[85] J. P. Perdew and W. Yue *Accurate and simple density functional for the electronic exchange energy: Generalized gradient approximation. Phys. Rev. B* **33**, 8800 (1986).

[86] J. P. Perdew, S. Kurth, A. Zupan and P. Blaha. *Accurate Density Functional with Correct Formal Properties: A Step Beyond the Generalized Gradient Approximation. Phys. Rev. Lett.* **82**, 2544 (1999).

[87] S. Dressler and W. Thiel. *Anharmonic force fields from density functional theory. Chem. Phys. Lett.* **273**, 71 (1997).

[88] C. Lee, W. Yang and R. G. Parr. *Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. Phys. Rev. B* **37**, 785 (1988)

[89] A. D. Becke. *A new inhomogeneity parameter in density-functional theory. J. Chem. Phys.* **109**, 2092 (1998).

[90] K. Kim and K. D. Jordan. *Comparison of density functional and MP2 calculations on the water monomer and dimer. J. Phys. Chem.* **98**, 10098 (1994).

[91] P. J. Stephens, F. J. Devlin, C. F. Chabalowski and M. J. Frisch. *Ab initio calculation of vibrational absorption and circular dichroism spectra using density functional force fields. J. Phys. Chem.* **98**, 11623 (1994).

[92] J. A. Chevary, S. H. Vosko, K. A. Jackson, M. R. Pederson and D. J. Singh. *Atoms, molecules, solids, and surfaces: Applications of the generalized gradient approximation for exchange and correlation. Phys. Rev.* B **46**, 6671 (1992).

[93] A. Szabo and N. S. Ostlund. *Modern Quantum Chemistry.* Dover, Mineola (1996).

[94] L. E. Chirlian and M. M. Francl. *Atomic charges derived from electrostatic potentials: A detailed study. J. Comp. Chem.* **8**, 894 (1987).

[95] C. I. Bayly, P. Cieplak, W. Cornell and P. A. Kollman. *A well-behaved electrostatic potential based method using charge restraints for deriving atomic charges: the RESP model. J. Phys. Chem.* **40**, 10269 (1993).

[96] A. K. Rappe and W. A. Goddard III. *Charge equilibration for molecular dynamics simulations. J. Phys. Chem.* **8**, 3358 (1991).

[97] C. M. Breneman and K. B. Wiberg. *Determining atom-centered monopoles from molecular electrostatic potentials. The need for high sampling density in formamide conformational analysis. J. Comp. Chem.* **11**, 361 (1990).

[98] H. A. Carlson, T. B. Nguyen, M. Orozco and W. L. Jorgensen. *Accuracy of free energies of hydration for organic molecules from* $6-31g*$*-derived partial charges. J. Com. Chem.* **14**, 1240 (1993).

[99] V. Ludwig, K. Coutinho and S. Canuto. *A Monte Carlo - quantum mechanics study of the lowest* $n-p*$ *and* $p-p*$ *states of uracil in water. Phys. Chem. Chem. Phys.* **9**, 4907 (2007).

[100] H. C. Georg, K. Coutinho and S. Canuto. *Solvent effects on the UV-visible absorption spectrum of benzophenone in water: A combined Monte Carlo quantum mechanics study including solute polarization. J. Chem. Phys.* **126**, 34507 (2007).

[101] T. L. Fonseca, K. Coutinho and S. Canuto. *Probing supercritical water with the $n-p*$ transition of acetone: A Monte Carlo/quantum mechanics study. J. Chem. Phys.* **126**, 34508 (2007).

[102] H. C. Georg, K. Coutinho and S. Canuto. *Converged electronic polarization of acetone in liquid water and the role in the $n-p*$ transition. Chem. Phys. Lett.* **429**, 119 (2006).

[103] A. C. Borin, L. Serrano-Andrés, V. Ludwig, K. Coutinho and S. Canuto. *Theoretical Electronic Spectra of 2-Aminopurine in Vapor and in Water. Int. J. Quantum Chem.* **106**, 2564 (2006).

[104] D. Frenkel and B. Smit. *Understanding Molecular Simulation.* Academic Press, New York, (1996).

[105] K. Coutinho. *Modelo Discreto de Solvente Solvatocromismo no Espectro de Absorção Molecular.* Tese de doutoramento, Universidade de São Paulo, São Paulo (1997).

[106] S. A. Adcock and J. A. McCammom. *Molecular dynamics: survey of methods simulating the activity of proteins. Chem. rev.* **106**, 1589 (2006).

[107] S. R. A. Salinas. *Introdução à Física Estatística.* EDUSP, São Paulo, (2005).

[108] K. Coutinho and S. Canuto. DICE: A Monte Carlo program for liquid simulation. University of São Paulo, São Paulo (2003).

[109] W. L. Jorgensen, J. D. Madura and Carol J. Swenson. *Optimized intermolecular potential functions for liquid hydrocarbons.* J. *Am. Chem. Soc.* **106**, 6638 (1984).

[110] W. L. Jorgensen, D. S. Maxwell and J. Tirado-Reves. *Development and testing of the OPLS all-atom force field on conformational energetics and properties of organic liquids. J. Am. Chem. Soc.* **118**, 11225 (1996).

[111] W. F. V. Gunsteren and P. K. W. Weiner. *Computer Simulation of Biomolecular Systems: Theoretical and Experimental Aplications.* Escom, Leiden, (1989).

[112] D. L. Beveridge and F. M. DiCapua. *Free energy via molecular simulation: applications to chemical and biomolecular systems. Annu. rev. Biophys.* **18**, 431 (1989).

[113] P. Kollman. *Free energy calculations: Applications to chemical and biochemical phenomena. Chem. Rev.* **93**, 2395 (1993).

[114] P. A. Bash, U. C. Singh, R. Langridge and P. Kollman. *Free energy calculations by computer simulation. Science.* **236**, 564 (1987).

[115] M. Mezei and D. L. Beveridge. *Free Energy Simulations. Ann. N. Y. Acad. Sci.* **482**, 1 (1986).

[116] C. H. Bennett *Efficient estimation of free energy differences from Monte Carlo data. J. Comp. Phys.* **22**, 245 (1976).

[117] R. W. Zwanzig. *High-temperature equation of state by a perturbation method. I. nonpolar gases. J. Chem. Phys.* **22,** 1420 (1954).

[118] M. J. Frisch, *et al.* GAUSSIAN 03: Connected system of programs for performing semiempirical, ab initio, and density functional molecular orbital (MO) calculations, Gaussian, Inc. Wallingford CT, (2004).

[119] J. W. Ponder, *et. al.* TINKER 4.2: Molecular modeling software is a complete and general package for molecular mechanics and dynamics, with soma special features for biopolymers, Washington University (2004).

[120] S. M∅ller, K. B. Andersen, J. Spanget-Larsen and J. Waluk. *Excited-state intramolecular proton transfer in anthralin quantum chemical calculations and fluorescence spectra. Chem. Phys. Lett..* **291**, 51 (1998).

[121] H. J. C. Berendsen, J. P. M. Postma, W. F. van Gunsteren, A. DiNola and J. R. Haak. *Molecular dynamics with coupling to an external bath J. Chem. Phys.* **81**, 3684 (1984).

[122] L. Verlet. *Computer 'experiments' on classical fluids. I. Thermodynamical properties of Lenard-Jones molecules. Phys. Rev.* **159**, 98 (1967).

[123] H. J. C. Berendsen, J. P. M. Postma, W. F. van Gunsteren, and J. Hermans. *Interaction models for water in relation to protein hydration. In Intermolecular Forces.* B. Pullman, ed. Reidel, Dordrecht. (1981).

[124] T. Darden, D. York and L. Pedersen. *Particle mesh Ewald: An N·log(N) method for Ewald sums in large systems. J. Chem. Phys.* **98**, 10089 (1993).

[125] S. Canuto and K. Coutinho. *From hydrogen bond to bulk: Solvation analysis of the $n - \pi*$ transition of formaldehyde in water. J. Quantum Chem.* **77**, 192 (2000).

[126] W. L. Jorgensen, J. Chandrasekhar, J. D. Madura, R. W. Impey and M. L. Klein. *Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. J. Chem. Phys.* **79**, 926 (1983).

[127] S. Canuto, K. Coutinho and D. Trzesniank. *New developments in Monte Carlo/-quantum mechanics methodology. The solvatochromism of β-carotene in different solvents. Adv. Quantum Chem.* **41**, 161 (2002).

[128] H. C. Georg, K. Coutinho and S. Canuto *Solvent effects on the UV-visible absorption spectrum of benzophenone in water: A combined Monte Carlo quantum mechanics study including solute polarization. J. Chem. Phys.* **126**, 34507 (2007).

[129] A. Ben-Naim. *Solvation Thermodynamics.* Plenum Press, New York, (1987).

[130] W.L. Jorgensen, J.K. Buckner, S. Boudon and J. Tirado-Rives. *Efficient computation of absolute free energies of binding by computer simulations. Application to the methane dimer in water. J. Chem. Phys.* **89**, 3742 (1988).

[131] H. C. Georg, K. Coutinho, S. Canuto. *A look inside the cavity of hydrated a-cyclodextrin: A computer simulation study. Chem. Phys. Lett.* **413**, 16 (2005).

[132] D. L. Beveridge and F. M. DiCapua. *Free energy via molecular simulation: applications to chemical and biomolecular systems. Ann. Rev. Biophys. Biophys. Chem.* **18**, 431 (1989).

[133] W. L. Jorgensen, J. M. Briggs and M. L. Contreras. *Relative partition coefficients for organic solutes from fluid simulations. J. Phys. Chem.* **94**, 1683 (1990).

[134] A. R. Cunha and C. C. Vequi-Suplicy. *Medidas do espectro eletrônico de absorção da molécula barbaloina em água. Medidas realizadas no laboratório de Biofísica do IFUSP.* São Paulo (2008).

[135] B. O. Myrvold, J. Spanget-Larsen and E. W. Thulstrup. *Transition moment directions in 9,10-anthraquinones symmetrical cases. Chemical Physics.* **104**, 305 (1986).

[136] K. B. Andersen and J. Spanget-Larsen. *Electronic transitions and intramolecular hydrogen bonding in anthralin. UV-VIS linear dichroism spectroscopy and quantum chemical calculations. Spectrochim. Acta Part A.* **53**, 2615 (1997).

Apêndice A

Aproximação de Born-Oppenheimer(BO)

Na equação 2.1, o hamiltoniano $\hat{\mathbf{H}}$ que descreve um sistema composto por M núcleos e N elétrons é mostrado na equação A.1 em unidades atômicas dado por:

$$\hat{\mathbf{H}}(\mathbf{r},\mathbf{R}) = -\sum_{i=1}^{N}\frac{1}{2}\nabla_i^2 - \sum_{A=1}^{M}\frac{1}{2M_A}\nabla_A^2 - \sum_{i=1}^{N}\sum_{A=1}^{M}\frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum_{i<j}^{N}\frac{1}{r_{ij}} + \sum_{A<B}^{M}\frac{Z_A Z_B}{r_{AB}}$$
$$= \hat{\mathbf{T}}_{elet} + \hat{\mathbf{T}}_{núcl} + \hat{\mathbf{V}}_{elet-núcl} + \hat{\mathbf{V}}_{elet} + \hat{\mathbf{V}}_{núcl} \quad \text{(A.1)}$$

onde $\mathbf{r} \equiv \{r_i\}$ corresponde ao vetor de posição do elétron i, $\mathbf{R} \equiv \{\mathbf{R}_A\}$ corresponde a posição do núcleo A e $r_{iA} \equiv |\mathbf{r}_i - \mathbf{R}_A|$ corresponde a distancia entre o elétron i e o núcleo A. As constantes Z_A e M_A correspondem o número atômico e massa atômica do núcleo A. Os operadores $\hat{\mathbf{T}}_{elet}, \hat{\mathbf{T}}_{núcl}$, $\hat{\mathbf{V}}_{elet}$ e $\hat{\mathbf{V}}_{núcl}$ correspondem a energia cinética e potencial dos elétrons e núcleos respectivamente. O operador $\hat{\mathbf{V}}_{elet-núcl}$ corresponde a atração elétron-núcleo.

Considerando o fato do termo da energia cinética nuclear em A.1 ser muito menor que os outros termos, uma vez que a massa atômica nuclear é muito maior que a massa do elétron, temos que $\hat{\mathbf{H}}(\mathbf{r},\mathbf{R}) \rightarrow \hat{H}_T(\mathbf{r},\mathbf{R})$, onde $\hat{H}_T(\mathbf{r},\mathbf{R})$ corresponde o hamiltoniano total para os núcleos fixos numa posição $\mathbf{R}$ dado por:

$$\hat{H}_T(\mathbf{r},\mathbf{R}) = (\hat{\mathbf{T}}_{elet} + \hat{\mathbf{V}}_{elet-núcl} + \hat{\mathbf{V}}_{elet}) + \hat{\mathbf{V}}_{núcl} \quad \text{(A.2)}$$

dentro da aproximação de Born-Oppenheimer esse hamiltoniano é separado em duas partes, uma correspondente a energia eletrônica e a outra a nuclear,

$$\hat{H}_T(\mathbf{r},\mathbf{R}) = \hat{H}_{elet}(\mathbf{r};\mathbf{R}) + \hat{H}_{núcl}(\mathbf{R}) \tag{A.3}$$

onde o hamiltoniano elétronico é dado pela equação A.4,

$$\hat{H}_{elet}(\mathbf{r};\mathbf{R}) = -\sum_{i=1}^{N}\frac{1}{2}\nabla_i^2 - \sum_{i=1}^{N}\sum_{A=1}^{M}\frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum_{i<j}^{N}\frac{1}{r_{ij}} \tag{A.4}$$

com a equação que descreve esse sistema elétronico dado por,

$$\hat{H}_{elet}(\mathbf{r};\mathbf{R})\chi_k(\mathbf{r};\mathbf{R}) = \varepsilon_k\chi_k(\mathbf{r};\mathbf{R}) \tag{A.5}$$

onde $\chi_k(\mathbf{r};\mathbf{R})$ é a função de estado eletrônica e ε_k a respectiva energia eletrôcica. Portanto o auto valor do operador $\hat{H}_T(\mathbf{r},\mathbf{R})$ para a molécula com os núcleos fixos é dado por:

$$E_T(\mathbf{R}) = \varepsilon_{elet} + \sum_{A<B}^{M}\frac{Z_A Z_B}{r_{AB}} \tag{A.6}$$

O estado $\Psi_{total}(\mathbf{r},\mathbf{R})$ dado pela equação 2.2, pode ser expandido no conjunto completo das autofunções eletrônicas do operador $\hat{H}_k(\mathbf{r};\mathbf{R})$,

$$\Psi_{total}(\mathbf{r},\mathbf{R}) = \sum_k \phi_k(\mathbf{R})\chi_k(\mathbf{r};\mathbf{R}) \tag{A.7}$$

onde $\phi_k(\mathbf{R})$, corresponde aos coeficientes da expansão.

Usando a equação de Schrödinger 2.1 e as equações A.5 e A.7, obtem-se:

$$\left(-\sum_{A=1}^{M}\frac{1}{2M_A}\nabla_A^2 + \hat{H}_{elet}(\mathbf{r};\mathbf{R}) + \sum_{A<B}^{M}\frac{Z_A Z_B}{r_{AB}}\right)\sum_k \phi_k(\mathbf{R})\chi_k(\mathbf{r};\mathbf{R}) = E\sum_k \phi_k(\mathbf{R})\chi_k(\mathbf{r};\mathbf{R}) \tag{A.8}$$

$$= \left(-\sum_{A=1}^{M}\frac{1}{2M_A}\nabla_A^2 + \varepsilon_{elet} + \sum_{A<B}^{M}\frac{Z_A Z_B}{r_{AB}}\right)\sum_k \phi_k(\mathbf{R})\chi_k(\mathbf{r};\mathbf{R}) = E\sum_k \phi_k(\mathbf{R})\chi_k(\mathbf{r};\mathbf{R}) \tag{A.9}$$

usando as equações A.5 e A.6, obtem-se:

$$\sum_k \left(-\sum_{A=1}^{M} \frac{1}{2M_A} \nabla_A^2 + (E_T(\mathbf{R}) - E) \right) \phi_k(\mathbf{R}) \chi_k(\mathbf{r};\mathbf{R}) = 0 \tag{A.10}$$

temos que,

$$\nabla_A^2 \left[\phi_k(\mathbf{R}) \chi_k(\mathbf{r};\mathbf{R}) \right] = \nabla_A \left[\left(\nabla_A \phi_k(\mathbf{R}) \right) \chi_k(\mathbf{r};\mathbf{R}) \right] + \left[\phi_k(\mathbf{R}) \left(\nabla_A \chi_k(\mathbf{r};\mathbf{R}) \right) \right]$$
$$= \left(\nabla_A^2 \phi_k(\mathbf{R}) \right) \chi_k(\mathbf{r};\mathbf{R}) + 2 \left(\nabla_A \phi_k(\mathbf{R}) \right) \left(\nabla_A \chi_k(\mathbf{r};\mathbf{R}) \right) + \phi_k(\mathbf{R}) \left(\nabla_A^2 \chi_k(\mathbf{r};\mathbf{R}) \right) \tag{A.11}$$

multiplicando a equação A.10 por $\chi_n^*(\mathbf{r};\mathbf{R})$ e integrando, obtem-se:

$$-\sum_k \sum_{A=1}^{M} \frac{1}{2M_A} \int \nabla_A^2 \left[\phi_k(\mathbf{R}) \chi_k(\mathbf{r};\mathbf{R}) \right] \chi_n^*(\mathbf{r};\mathbf{R}) d^3r$$
$$+ \sum_k (E_T(\mathbf{R}) - E) \int \phi_k(\mathbf{R}) \chi_k(\mathbf{r};\mathbf{R}) \chi_n^*(\mathbf{r};\mathbf{R}) d^3r = 0 \tag{A.12}$$

usando a equação A.11, obtem-se:

$$-\sum_k \sum_{A=1}^{M} \frac{1}{2M_A} \int \left(\nabla_A^2 \phi_k(\mathbf{R}) \right) \chi_k(\mathbf{r};\mathbf{R}) \chi_n^*(\mathbf{r};\mathbf{R}) d^3r$$
$$-\sum_k \sum_{A=1}^{M} \frac{1}{2M_A} 2 \int \left(\nabla_A \phi_k(\mathbf{R}) \right) \left(\nabla_A \chi_k(\mathbf{r};\mathbf{R}) \right) \chi_n^*(\mathbf{r};\mathbf{R}) d^3r$$
$$-\sum_k \sum_{A=1}^{M} \frac{1}{2M_A} \int \phi_k(\mathbf{R}) \left(\nabla_A^2 \chi_k(\mathbf{r};\mathbf{R}) \right) \chi_n^*(\mathbf{r};\mathbf{R}) d^3r + (E_T(\mathbf{R}) - E) \phi_n(\mathbf{R}) = 0 \tag{A.13}$$

integrando o primeiro termo da equação A.13, obtem-se:

$$-\left\{ \sum_{A=1}^{M} \frac{1}{2M_A} \nabla_A^2 - (E_T(\mathbf{R}) - E) \right\} \phi_n(\mathbf{R}) =$$
$$-\sum_k \sum_{A=1}^{M} \frac{1}{2M_A} \left\{ 2 \int \left(\nabla_A \chi_k(\mathbf{r};\mathbf{R}) \right) \chi_n^*(\mathbf{r};\mathbf{R}) d^3r . \nabla_A + \int \left(\nabla_A^2 \chi_k(\mathbf{r};\mathbf{R}) \right) \chi_n^*(\mathbf{r};\mathbf{R}) d^3r \right\} \phi_k(\mathbf{R}) \tag{A.14}$$

definindo

$$\phi_{nk}(R, \nabla) = \sum_{A=1}^{M} \frac{1}{M_A} \left(Y_{nk}^{(A)} \nabla_A + Z_{nk}^{(A)} \right) \tag{A.15}$$

onde,

$$Y_{nk}^{(A)} = \int \left(\nabla_A \chi_k(\mathbf{r};\mathbf{R})\right) \chi_n^*(\mathbf{r};\mathbf{R}) d^3r$$
$$Z_{nk}^{(A)} = \frac{1}{2}\int \left(\nabla_A^2 \chi_k(\mathbf{r};\mathbf{R})\right) \chi_n^*(\mathbf{r};\mathbf{R}) d^3r \tag{A.16}$$

assim a equação A.14 torna-se,

$$-\left\{\sum_{A=1}^{M} \frac{1}{2M_A}\nabla_A^2 - E_T(\mathbf{R})\right\}\phi_n(\mathbf{R}) = E\phi_n(\mathbf{R}) + \sum_k \phi_{nk}(R,\nabla)\phi_k(\mathbf{R}) \tag{A.17}$$

para todos os ϕ_{nk} nulos, obtem-se a equação de Schrödinger independente do tempo para o movimetno dos núcleos na molécula, dado pela equação,

$$\hat{H}_{núcl}(\mathbf{R})\phi_n(\mathbf{R}) = E\phi_n(\mathbf{R}) \tag{A.18}$$

com o hamiltoniano correspondente a parte cuclear dado por:

$$\hat{H}_{núcl}(\mathbf{R}) = -\sum_{A=1}^{M} \frac{1}{2M_A}\nabla_A^2 + E_T(\mathbf{R}) \tag{A.19}$$

onde $E_T(\mathbf{R})$ é o potencial efetivo correspondente ao movimento nuclear que é definido para cada $\mathbf{R}$, formando uma hipersuperfície de energia potencial. O valor de $E_T(\mathbf{R})$ é obtido a partir da solução das equações A.5 e A.6, para o hamiltoniano correspondente a parte eletrônica.

Apêndice B

Arquivos de Entrada da Dinâmica Molecular da Emodina

Neste apêndice mostramos os arquivos de entrada, no qual, realizamos a Dinâmica Molecular(MD) com a molécula de emodina no programa Tinker. O Tinker é um programa para realização de Dinâmica Molecular(MD), com alguns recursos especiais para biomoléculas. Esse programa utiliza vários campos de forças conhecidos na literatura molecular, como o Amber ff94, ff96, ff98 and ff99, CHARMM19, CHARMM27, DANG, MM2, MM3, OPLS-UA, OPLS-AA, OPLS-AA/L e AMOEBA. Neste trabalho, usamos o campo de força OPLS-AA para realização da MD. Os principais arquivos de entrada do programa Tinker são: o arquivo de parâmetros do campo de força *".prm"*, o arquivo de coordenadas *".xyz"* e o arquivo de controle *".key"*. Segue abaixo a descrição de cada um desses arquivos:

O arquivo de parâmetros ".prm". Nesse arquivo encontram-se todos os parâmetros necessário para a função do pontencial de interação molecular como por exemplo: o tipo do átomo, os parâmetros (van der Waals (ϵ_{ij} e σ_{ij}), os de estiramento da ligação(k^r_{ij} e r_{eq}), os de oscilação no ângulo(k^θ_{ijk} e θ_{eq}), os três parâmetros da torção simples($\mathcal{U}_1$, $\mathcal{U}_2$ e $\mathcal{U}_3$) e as cargas para cada tipo de átomo.

Esse arquivo ".prm" não é necessariamente obrigatório para realização da MD,

uma vez que é possível declarar todos esses parâmetros no arquivo de entrada ".key". É recomendável, que realize a MD, declarando os parâmetros do campo de força no arquivo ".key", pois essa prática permite escolher adquadamente os parâmetros do campo de força para o sistema de interesse, gerando com isso, resultados mais confiáveis. Um outro fator importante nessa prática é a liberdade em realizar uma MD com parâmetros adicionais ao campo de força, como por exemplo, usar um conjunto de cargas obtidas do cálculo quântico *ab-initio*.

O arquivo de coordenadas ".xyz". Nesse arquivo se encontra as coordenadas x, y e z em $\mathring{A}$ de cada átomo do sistema, no nosso caso, 30 e 1500 átomos pertencente 1 molécula de emodina e 500 moléculas de água, respectivamente. No arquivo B.0.1, está listado o arquivo, ".xyz" para esse sistema. A descrição desse arquivo é dada da seguinte forma: na primeira coluna desse arquivo, está o índice de cada átomo do sistema, e na segunda coluna está o tipo de cada átomo descrito no campo de força OPLS-AA, Na 3ª, 4ª e 5ª colunas, estão as coordenadas x, y e z, respectivamente de cada átomo. Na 6ª coluna, encontra-se o índice do tipo do átomo descrito no campo de força OPLS-AA, e na 7ª, 8ª e 9ª colunas, estão as conectividades, ou seja, as ligações entre os átomos de uma mesma molécula.

O arquivo de Keyword: ".key". Esse é um arquivo bastante importante na realização da Dinâmica Molecular. Nesse arquivo é declarado os parâmetros do campo de força e os parâmetros de controle da MD como por exemplo, a forma do potencial de interação, o método usado para resolver as equações diferenciais para a movimentação dos átomos, no nosso caso, é o algoritimo de Verlet, o tipo de termotático, a semente do gerador de números aleatórios, a descrição das moléculas do sistemas, o tamanho da caixa da MD, etc. No arquivo B.0.2, está listado o arquivo, ".key" para o sistema emodina/água.

A seguir mostramos os arquivos B.0.1 e B.0.2, que são os arquivos de coordenadas ".xyz" e de Keyword: ".key", respectivamente.

```
1530   # Arquivo ".xyz", com uma molécula de emodina mais 500 moléculas de água
 1     CA       2.60765    -0.88758    -0.48390       1       2  11  18
 2     CA       2.85882    -2.09659    -1.14197       2       1   3  29
 3     CA       1.80996    -2.90316    -1.58223       3       2   4  20
 4     CA       0.48315    -2.50080    -1.36645       4       3  12  30
 5     CA      -2.84896     0.69501     0.37192       5       6  13  28
 6     CA      -3.18293     1.89166     1.02688       6       5   7  23
 7     CA      -2.15418     2.71540     1.48074       7       6   8  27
 8     CA      -0.80548     2.37068     1.29740       8       7  14  15
 9     CA       0.95140     0.79906     0.43884       9      11  14  17
10     CA      -1.21100    -0.93691    -0.51756      10      12  13  22
11     CA       1.26978    -0.45817    -0.25041      11       1   9  12
12     CA       0.22529    -1.30311    -0.71348      12       4  10  11
13     CA      -1.51733     0.33643     0.18055      13       5  10  14
14     CA      -0.46518     1.16231     0.63610      14       8   9  13
15     OH       0.12365     3.22293     1.76645      15       8  16
16     HO       1.00646     2.81245     1.54280      16      15
17     O        1.84563     1.56673     0.86103      17       9
18     OH       3.63632    -0.12280    -0.06775      18       1  19
19     HO       4.49283    -0.56026    -0.30710      19      18
20     OH       2.13307    -4.05533    -2.20746      20       3  21
21     HO       1.31497    -4.54734    -2.47434      21      20
22     O       -2.10947    -1.67308    -0.92578      22      10
23     CT      -4.62557     2.27766     1.24704      23       6  26  24  25
24     HC      -4.81739     3.30258     0.90917      24      23
25     HC      -5.30371     1.60645     0.71219      25      23
26     HC      -4.88309     2.23727     2.31315      26      23
27     HA      -2.37247     3.65254     1.99141      27       7
28     HA      -3.62803     0.03229     0.00428      28       5
29     HA       3.88732    -2.41367    -1.31314      29       2
30     HA      -0.34565    -3.11810    -1.70493      30       4
31     O    -0.21962    -1.77454     2.38316     106      32  33
32     H     0.11283    -1.33254     3.21632     107      31
33     H     0.35204    -2.56854     2.17628     107      31
34     O    -1.73630     1.03619    -3.35112     106      35  36
35     H    -2.50988     0.40273    -3.33202     107      34
36     H    -0.89386     0.52811    -3.53056     107      34
37     O     0.66615     0.46239    -4.16060     106      38  39
38     H     0.82919    -0.41427    -4.61332     107      37
39     H     1.32283     1.13791    -4.49600     107      37
40     O    -2.80397    -2.34518     2.83527     106      41  42
41     H    -1.89890    -2.05010     2.52892     107      40
42     H    -3.35768    -1.54326     3.05974     107      40
43     O     3.72731     0.72854     2.78851     106      44  45
44     H     3.68723     0.80804     1.79245     107      43
45     H     2.88030     1.08222     3.18542     107      43
46     O     0.33097     4.62181    -0.65629     106      47  48
47     H    -0.57877     4.79870    -0.28059     107      46
48     H     0.24319     4.24410    -1.57808     107      46
49     O    -0.07036     3.38660    -3.42098     106      50  51
50     H    -0.75462     2.65745    -3.43509     107      49
51     H     0.74317     3.07079    -2.93262     107      49
52     O     0.78620    -0.41760     4.73082     106      53  54
53     H    -0.16643    -0.11353     4.72135     107      52
54     H     1.39025     0.37925     4.74539     107      52
55     O     1.65395    -3.89691     2.46853     106      56  57
56     H     1.11444    -4.56607     1.95741     107      55
57     H     2.25239    -3.40079     1.83939     107      55
58     O    -3.44827     2.87070    -1.89548     106      59  60
59     H    -4.43680     2.78503    -2.02011     107      58
60     H    -2.98480     2.13785    -2.39369     107      58
61     O    -4.04200    -0.58960    -2.77302     106      62  63
62     H    -4.97859    -0.29343    -2.58556     107      61
63     H    -3.81620    -1.36996    -2.18983     107      61
64     O    -1.67910     0.83842     4.68585     106      65  66
65     H    -1.89363     1.81510     4.67530     107      64
66     H    -2.48113     0.31785     4.39292     107      64
67     O     1.95795     2.05382     4.26172     106      68  69
68     H     2.75856     2.64226     4.37490     107      67
69     H     1.14159     2.62007     4.14778     107      67
70     O     4.18139     3.17455    -0.14663     106      71  72
71     H     3.56315     2.41012     0.03637     107      70
72     H     4.48285     3.57400     0.71917     107      70
73     O    -3.52420    -4.08894    -0.41989     106      74  75
74     H    -2.91730    -3.29519    -0.37871     107      73
75     H    -3.26277    -4.74541     0.28776     107      73
76     O    -2.08324     5.19315    -0.86844     106      77  78
77     H    -2.47519     4.37804    -1.29511     107      76
78     H    -2.81924     5.81072    -0.59102     107      76
79     O     4.63979    -2.01988     2.72378     106      80  81
80     H     4.55094    -1.06815     2.42988     107      79
81     H     4.09297    -2.16655     3.54812     107      79
82     O     0.02107    -5.63097     0.87627     106      83  84
83     H    -0.86197    -6.09112     0.78375     107      82
84     H     0.58099    -5.81892     0.06928     107      82
85     O     2.69307     5.27812     0.54219     106      86  87
86     H     3.09324     4.45136     0.14671     107      85
87     H     1.70544     5.27830     0.38519     107      85
88     O     1.58575    -1.84307    -5.30746     106      89  90
89     H     1.83318    -1.60798    -6.24745     107      88
90     H     2.06257    -2.67931    -5.03653     107      88
91     O    -4.14947    -0.39221     4.26749     106      92  93
92     H    -4.38667    -0.45042     5.23724     107      91
93     H    -4.95623    -0.12035     3.74281     107      91
94     O     0.05574    -5.55578    -2.50658     106      95  96
95     H    -0.22274    -6.25153    -1.84444     107      94
96     H    -0.49303    -5.64788    -3.33750     107      94
97     O     2.84740    -2.19577     5.00906     106      98  99
98     H     2.12249    -1.51923     4.87924     107      97
99     H     3.07263    -2.26051     5.98124     107      97
100    O     5.99359    -1.19136    -0.68856     106     101  102
101    H     6.86203    -0.69972    -0.62406     107     100
102    H     6.16790    -2.17604    -0.69710     107     100
103    O    -6.07776    -0.85328     1.08194     106     104  105
104    H    -6.43328    -1.65757     0.60571     107     103
105    H    -6.17277    -0.04929     0.49487     107     103
106    O     2.69626     1.86868    -5.35391     106     107  108
107    H     3.50658     1.31184    -5.53659     107     106
108    H     2.97714     2.75569    -4.98732     107     106
109    O    -0.14641     4.10627     4.86204     106     110  111
110    H    -1.10247     3.82496     4.77914     107     109
111    H    -0.03351     5.02139     4.47490     107     109
112    O    -2.00872     1.73690    -6.02393     106     113  114
113    H    -1.12180     1.77069    -6.48470     107     112
114    H    -1.90012     1.31823    -5.12227     107     112
115    O    -2.03879    -3.93295     4.91987     106     116  117
116    H    -1.34678    -4.56736     4.57535     107     115
117    H    -2.24674    -3.25273     4.21693     107     115
118    O    -0.56976    -3.45878    -5.70224     106     119  120
119    H     0.13119    -2.78947    -5.45577     107     118
120    H    -0.13090    -4.30419    -6.00677     107     118
121    O     2.66995     5.70363    -2.27505     106     122  123
122    H     1.88267     5.83584    -1.67274     107     121
123    H     3.14779     6.57391    -2.39483     107     121
124    O    -2.74125     3.64525     4.96385     106     125  126
125    H    -3.20563     4.06037     4.18149     107     124
126    H    -3.36522     3.61621     5.74479     107     124
127    O    -0.05974     6.14045     2.98561     106     128  129
128    H     0.00468     6.93079     2.37628     107     127
129    H     0.11355     5.30389     2.46583     107     127
130    O    -4.31053    -4.33116    -2.98449     106     131  132
131    H    -5.25672    -4.04905    -3.14326     107     130
132    H    -4.12959    -4.35231    -2.00120     107     130
133    O    -2.87443     4.69454    -4.24910     106     134  135
134    H    -3.20014     3.75120    -4.18515     107     133
135    H    -2.04529     4.79879    -3.69982     107     133
136    O     5.28663    -4.31491     1.70937     106     137  138
137    H     5.34428    -4.19636     0.71807     107     136
138    H     5.11853    -3.42898     2.14175     107     136
139    O     3.15778     4.26121    -4.50417     106     140  141
```

```
140    H      3.02915     4.68752    -5.39959     107     139
141    H      2.86766     4.89606    -3.78803     107     139
142    O     -6.14510    -3.39724     0.16122     106     143  144
143    H     -6.62971    -4.23481    -0.09114     107     142
144    H     -5.16205    -3.52991     0.03444     107     142
145    O     -4.31275    -0.90191    -5.55695     106     146  147
146    H     -3.98699    -0.97633    -4.61439     107     145
147    H     -5.23200    -0.50820    -5.56174     107     145
148    O     -6.80929    -0.35992    -1.89505     106     149  150
149    H     -7.65537     0.00053    -1.50228     107     148
150    H     -7.01031    -1.19064    -2.41423     107     148
151    O     -5.32416    -3.92526     2.97134     106     152  153
152    H     -4.49397    -3.40896     3.18175     107     151
153    H     -5.79048    -3.50394     2.19346     107     151
154    O     -2.55193    -6.62594     1.00522     106     155  156
155    H     -2.35973    -7.59975     0.88340     107     154
156    H     -3.28293    -6.51214     1.67808     107     154
157    O     -2.10573    -5.30242    -4.53595     106     158  159
158    H     -1.48909    -4.60446    -4.90020     107     157
159    H     -2.69906    -4.89378    -3.84240     107     157
160    O      4.67420    -0.02975    -5.55578     106     161  162
161    H      4.49527    -0.95656    -5.88605     107     160
162    H      5.44071    -0.04694    -4.91371     107     160
163    O      4.55897    -5.27318    -2.19771     106     164  165
164    H      3.57007    -5.13090    -2.15424     107     163
165    H      4.88107    -5.09300    -3.12716     107     163
166    O      0.69032     1.92345    -6.99377     106     167  168
167    H      1.52989     1.86309    -6.45384     107     166
168    H      0.80314     1.40915    -7.84396     107     166
169    O      3.91430     4.02857     4.74427     106     170  171
170    H      4.84423     4.36627     4.59854     107     169
171    H      3.31775     4.79171     4.99289     107     169
172    O     -1.33058    -6.27169     3.66270     106     173  174
173    H     -2.02203    -6.85500     4.08896     107     172
174    H     -1.49755    -6.22200     2.67796     107     172
175    O      0.24570    -2.00719     7.19649     106     176  177
176    H      0.68373    -1.60840     6.39079     107     175
177    H     -0.74210    -1.85967     7.14612     107     175
178    O      0.17160     5.04832    -5.56824     106     179  180
179    H      0.83150     4.66702    -6.21571     107     178
180    H     -0.01644     4.37797    -4.85038     107     178
181    O      5.35200     0.76755     5.24049     106     182  183
182    H      4.76184     1.12094     5.96636     107     181
183    H      4.85739     0.78337     4.37149     107     181
184    O     -4.20657     5.14264     3.35923     106     185  186
185    H     -5.12249     4.77610     3.19551     107     184
186    H     -4.19552     6.11960     3.14591     107     184
187    O      6.72646     0.07237    -3.58841     106     188  189
188    H      6.64395    -0.27292    -2.65352     107     187
189    H      6.89540     1.05777    -3.56604     107     187
190    O      1.01035     2.03275     7.41730     106     191  192
191    H      0.02848     2.16987     7.54844     107     190
192    H      1.31369     2.54359     6.61289     107     190
193    O      2.78650    -7.20603     0.64564     106     194  195
194    H      3.55616    -7.30830     1.27590     107     193
195    H      2.00411    -7.72643     0.98782     107     193
196    O     -6.37968     3.63987    -2.55412     106     197  198
197    H     -6.17171     4.24425    -3.32322     107     196
198    H     -7.16886     3.06964    -2.78230     107     196
199    O      2.83717    -5.07992     5.38044     106     200  201
200    H      2.66519    -4.24347     4.86001     107     199
201    H      3.71007    -4.99943     5.86173     107     199
202    O      6.76357    -3.96056    -0.68367     106     203  204
203    H      6.31412    -4.55570    -1.34991     107     202
204    H      7.65563    -4.34330    -0.44333     107     202
205    O      5.88149     5.42707     0.30595     106     206  207
206    H      5.27012     6.21782     0.27404     107     205
207    H      5.46147     4.66121    -0.18097     107     205
208    O     -0.14702    -7.93307    -1.20000     106     209  210
209    H     -0.55014    -8.84337    -1.10558     107     208
210    H      0.79717    -8.01809    -1.51834     107     208
211    O     -4.43155     3.05437    -6.21091     106     212  213
212    H     -3.94004     2.18349    -6.21729     107     211
213    H     -4.18454     3.58243    -7.02344     107     211
214    O     -6.37349     5.24762    -0.31633     106     215  216
215    H     -5.59273     5.86669    -0.23129     107     214
216    H     -6.25489     4.67072    -1.12452     107     214
217    O      2.50731    -6.36250    -4.54963     106     218  219
218    H      3.28163    -5.80392    -4.84709     107     217
219    H      1.83914    -6.42763    -5.29082     107     217
220    O     -4.09115     7.09660    -0.24889     106     221  222
221    H     -3.57580     7.71670    -0.84047     107     220
222    H     -4.27372     7.54544     0.62591     107     220
223    O     -6.84833    -2.67871    -3.75057     106     224  225
224    H     -7.83952    -2.67428    -3.88323     107     223
225    H     -6.40934    -2.18564    -4.50172     107     223
226    O      2.57985    -0.99812    -7.78129     106     227  228
227    H      2.91650    -1.34518    -8.65666     107     226
228    H      2.64256    -0.00009    -7.77212     107     226
229    O     -2.40062    -1.38905     7.82327     106     230  231
230    H     -3.27351    -0.94708     7.61640     107     229
231    H     -2.14269    -1.19108     8.76897     107     229
232    O      4.37502    -6.62567     2.90466     106     233  234
233    H      4.83082    -5.79406     2.58727     107     232
234    H      3.52119    -6.38272     3.36510     107     232
235    O      3.72714     0.85239     7.49482     106     236  237
236    H      2.87860     1.38138     7.48104     107     235
237    H      3.53849    -0.07158     7.82762     107     235
238    O      2.44494     6.42857     4.82911     106     239  240
239    H      3.22832     6.83618     4.35983     107     238
240    H      1.59891     6.81938     4.46642     107     238
241    O      7.49822    -0.41165     3.84923     106     242  243
242    H      6.61096    -0.86758     3.77870     107     241
243    H      7.86053    -0.52881     4.77393     107     241
244    O     -6.64489     0.17377    -5.14699     106     245  246
245    H     -6.64238     1.11142    -5.21597     107     244
246    H     -7.58820    -0.15446    -5.09678     107     244
247    O      7.41814     2.67935    -3.01278     106     248  249
248    H      6.90207     3.40808    -3.46299     107     247
249    H      7.92865     3.05992    -2.24167     107     247
250    O     -4.81878    -6.57928     2.43100     106     251  252
251    H     -4.50600    -6.92254     3.31665     107     250
252    H     -5.03350    -5.60559     2.50789     107     250
253    O      5.02016    -4.91863    -4.73262     106     254  255
254    H      5.75276    -5.37523    -5.23746     107     253
255    H      4.71773    -4.11214    -5.24074     107     253
256    O      4.02043     7.45485     1.07433     106     257  258
257    H      3.66459     8.25981     0.59947     107     256
258    H      3.47141     6.65499     0.83169     107     256
259    O     -4.83051    -0.21124     6.99410     106     260  261
260    H     -5.82654    -0.30048     6.99795     107     259
261    H     -4.57467     0.68376     7.35957     107     259
262    O      2.25464    -7.96529    -2.29498     106     263  264
263    H      2.32439    -7.35672    -3.08545     107     262
264    H      2.89703    -7.66865    -1.58830     107     262
265    O     -6.78554     4.63820     2.29952     106     266  267
266    H     -7.76369     4.73166     2.48540     107     265
267    H     -6.61755     4.77269     1.32292     107     265
268    O      8.53944     0.13172     0.04840     106     269  270
269    H      8.81544    -0.37299     0.86642     107     268
270    H      8.91047     1.05951     0.08824     107     268
271    O      1.10740    -7.16838     4.71388     106     272  273
272    H      1.74974    -6.45125     4.98441     107     271
273    H      0.22550    -6.75657     4.48428     107     271
274    O      0.21934     8.46151     1.57392     106     275  276
275    H      0.98120     8.81678     2.11561     107     274
276    H      0.28531     8.80847     0.63833     107     274
277    O     -5.15161    -3.67034     6.00203     106     278  279
278    H     -5.48170    -4.01414     5.12288     107     277
279    H     -4.16763    -3.83309     6.07532     107     277
```

280	O	-4.60087	-4.53752	-5.92043	106	281	282
281	H	-4.51419	-4.39547	-4.93434	107	280	
282	H	-4.18537	-3.76818	-6.40577	107	280	
283	O	-3.42044	-7.58692	-2.75095	106	284	285
284	H	-3.26742	-8.29121	-2.05770	107	283	
285	H	-3.12657	-6.69970	-2.39521	107	283	
286	O	5.94448	-1.73562	6.16128	106	287	288
287	H	6.94333	-1.69617	6.18938	107	286	
288	H	5.58503	-0.85757	5.84522	107	286	
289	O	6.06022	4.88640	-4.09214	106	290	291
290	H	6.09017	5.65069	-3.44790	107	289	
291	H	5.12692	4.53110	-4.14456	107	289	
292	O	3.60332	-2.04866	7.66648	106	293	294
293	H	4.58588	-1.88281	7.75091	107	292	
294	H	3.23294	-2.31667	8.55589	107	292	
295	O	0.84986	-5.27301	-6.93043	106	296	297
296	H	1.63330	-4.93442	-7.45162	107	295	
297	H	0.37969	-5.98091	-7.45760	107	295	
298	O	-3.21864	-0.44570	-8.26147	106	299	300
299	H	-3.46213	-0.51755	-7.29419	107	298	
300	H	-2.69307	-1.25179	-8.53361	107	298	
301	O	-8.31243	-1.57490	2.72271	106	302	303
302	H	-9.06890	-1.48274	2.07516	107	301	
303	H	-7.51645	-1.07700	2.37838	107	301	
304	O	8.24912	1.81620	2.63631	106	305	306
305	H	9.17148	1.77092	3.02010	107	304	
306	H	7.70384	1.05550	2.98858	107	304	
307	O	1.42121	7.35079	-4.84788	106	308	309
308	H	1.17257	8.18903	-5.33325	107	307	
309	H	0.69918	6.66942	-4.96809	107	307	
310	O	0.97747	-4.57942	7.71260	106	311	312
311	H	1.63303	-4.71882	6.97038	107	310	
312	H	0.49052	-3.71772	7.56969	107	310	
313	O	-8.87014	0.67438	-0.63721	106	314	315
314	H	-9.17340	0.43783	0.28591	107	313	
315	H	-9.35359	1.49304	-0.94728	107	313	
316	O	-7.42796	2.71555	4.28836	106	317	318
317	H	-7.13627	3.28714	3.52139	107	316	
318	H	-7.50058	3.27631	5.11319	107	316	
319	O	-2.39058	-4.32839	7.61374	106	320	321
320	H	-2.35825	-3.44922	8.08922	107	319	
321	H	-2.25778	-4.18218	6.63341	107	319	
322	O	-1.22823	2.76334	8.48828	106	323	324
323	H	-2.15746	3.08617	8.30838	107	322	
324	H	-1.22801	2.18699	9.30553	107	322	
325	O	3.89419	-3.51614	-7.38054	106	326	327
326	H	3.21066	-2.91955	-7.80117	107	325	
327	H	4.59808	-3.74296	-8.05372	107	325	
328	O	1.03219	-8.74973	2.42977	106	329	330
329	H	0.91440	-8.00923	3.09147	107	328	
330	H	1.21250	-9.60512	2.91543	107	328	
331	O	-0.10989	5.08967	7.67756	106	332	333
332	H	-0.72800	5.25510	6.90904	107	331	
333	H	-0.38770	4.25618	8.15523	107	331	
334	O	2.81987	4.72691	-7.26745	106	335	336
335	H	3.78664	4.71427	-7.52293	107	334	
336	H	2.32086	5.33846	-7.88149	107	334	
337	O	3.01253	8.24934	-2.82240	106	338	339
338	H	2.76217	9.21293	-2.72808	107	337	
339	H	2.39849	7.80796	-3.47677	107	337	
340	O	-1.95710	-3.38461	-8.44319	106	341	342
341	H	-1.52220	-3.31308	-7.54552	107	340	
342	H	-1.27922	-3.67177	-9.11999	107	340	
343	O	-4.56536	3.79842	7.10747	106	344	345
344	H	-5.52046	3.96408	6.86169	107	343	
345	H	-4.51664	3.05166	7.77082	107	343	
346	O	-5.95382	5.38436	-4.68917	106	347	348
347	H	-6.75217	5.12446	-5.23244	107	346	
348	H	-5.13430	4.96427	-5.07904	107	346	
349	O	-7.29083	-5.72558	-0.30312	106	350	351
350	H	-6.69630	-6.52760	-0.36100	107	349	
351	H	-7.92161	-5.72162	-1.07911	107	349	
352	O	7.78628	-2.42784	-4.59733	106	353	354
353	H	7.54952	-1.48744	-4.35308	107	352	
354	H	7.48892	-2.61386	-5.53383	107	352	
355	O	4.49628	1.06359	-8.15666	106	356	357
356	H	4.84763	1.99593	-8.07103	107	355	
357	H	4.88150	0.49426	-7.43035	107	355	
358	O	-0.82673	7.79907	5.19602	106	359	360
359	H	-0.95260	7.55540	4.23433	107	358	
360	H	-0.21288	8.58570	5.26291	107	358	
361	O	-7.58740	-2.27532	5.25552	106	362	363
362	H	-6.78118	-2.85025	5.39520	107	361	
363	H	-7.79800	-2.22819	4.27906	107	361	
364	O	-2.69758	8.75627	-2.24217	106	365	366
365	H	-3.07239	9.56129	-1.78224	107	364	
366	H	-2.02163	9.04452	-2.92047	107	364	
367	O	4.84597	7.24979	3.78540	106	368	369
368	H	5.72020	6.93951	4.15889	107	367	
369	H	4.92821	7.36380	2.79531	107	367	
370	O	1.47951	-1.04789	9.40000	106	371	372
371	H	1.10436	-1.30701	8.50996	107	370	
372	H	1.25685	-1.75276	10.07353	107	370	
373	O	-5.06067	7.55551	-3.24175	106	374	375
374	H	-5.18015	6.75982	-3.83559	107	373	
375	H	-4.16822	7.50570	-2.79334	107	373	
376	O	-3.53976	6.02900	-6.67873	106	377	378
377	H	-3.08060	5.51532	-7.40356	107	376	
378	H	-3.23386	5.69381	-5.78759	107	376	
379	O	-1.34202	-9.46671	0.93043	106	380	381
380	H	-0.70181	-8.89081	1.43891	107	379	
381	H	-1.58938	-10.26077	1.48574	107	379	
382	O	-7.12071	2.74985	-5.91935	106	383	384
383	H	-6.12908	2.86288	-5.98219	107	382	
384	H	-7.53114	2.90203	-6.81849	107	382	
385	O	5.45032	-4.42997	6.70259	106	386	387
386	H	5.48807	-4.61827	7.68400	107	385	
387	H	5.76543	-3.49672	6.52994	107	385	
388	O	-3.52527	-7.66183	4.77305	106	389	390
389	H	-3.47680	-7.37189	5.72890	107	388	
390	H	-3.20585	-8.60624	4.69464	107	388	
391	O	5.72331	7.40821	-2.71053	106	392	393
392	H	4.82895	7.83500	-2.84484	107	391	
393	H	6.11883	7.72718	-1.84920	107	391	
394	O	0.63511	9.74009	-0.64825	106	395	396
395	H	0.11573	9.61732	-1.49396	107	394	
396	H	1.52695	10.13995	-0.85993	107	394	
397	O	-1.84247	-8.24207	-5.04941	106	398	399
398	H	-2.06705	-7.35711	-5.45739	107	397	
399	H	-2.45034	-8.41572	-4.27456	107	397	
400	O	9.50559	-0.72768	-2.49789	106	401	402
401	H	9.06982	-0.40879	-1.65618	107	400	
402	H	9.18919	-1.65297	-2.70710	107	400	
403	O	-8.77341	2.34345	-3.79214	106	404	405
404	H	-9.35418	1.57901	-4.07213	107	403	
405	H	-8.21102	2.63553	-4.56576	107	403	
406	O	7.70862	2.09865	5.88561	106	407	408
407	H	8.39451	2.16841	5.16122	107	406	
408	H	6.90903	1.60662	5.54122	107	406	
409	O	-9.53853	1.84835	1.75104	106	410	411
410	H	-9.64460	1.64658	2.72474	107	409	
411	H	-9.31879	2.81681	1.63337	107	409	
412	O	-8.01014	-5.45426	2.32504	106	413	414
413	H	-7.17878	-4.95535	2.57000	107	412	
414	H	-7.93141	-5.79315	1.38748	107	412	
415	O	9.58729	-1.23974	2.15864	106	416	417
416	H	8.72975	-1.36716	2.65709	107	415	
417	H	10.32466	-1.05024	2.80704	107	415	
418	O	7.32992	-6.29376	2.36656	106	419	420
419	H	6.61911	-5.70670	1.97906	107	418	

```
420    H      8.21909    -6.03326     1.99026     107     418
421    O      2.14502     6.27653     7.44779     106     422  423
422    H      1.27602     5.87246     7.73350     107     421
423    H      2.22798     6.21945     6.45284     107     421
424    O     -0.87353     5.80317    -8.06486     106     425  426
425    H     -0.77885     5.71477    -7.07325     107     424
426    H      0.03233     5.88797    -8.47990     107     424
427    O      9.41197     3.05614    -0.98673     106     428  429
428    H      9.30523     3.34913    -0.03656     107     427
429    H     10.38360     3.03754    -1.22261     107     427
430    O     -4.98190     8.44595     2.32055     106     431  432
431    H     -4.48700     9.17658     2.79097     107     430
432    H     -5.75323     8.14959     2.88383     107     430
433    O      9.06655     4.39426     1.41599     106     434  435
434    H      8.34449     5.07144     1.27418     107     433
435    H      8.80019     3.77231     2.15239     107     433
436    O     -6.04597    -8.10103     0.17522     106     437  438
437    H     -6.79319    -8.72807     0.42697     107     436
438    H     -5.41704    -7.99948     0.94606     107     436
439    O      2.56017     2.04052    -9.66626     106     440  441
440    H      2.27933     2.77291    -9.04595     107     439
441    H      3.24658     1.46840    -9.21728     107     439
442    O     -2.34173     9.89634     0.49366     106     443  444
443    H     -1.98628    10.82525     0.59776     107     442
444    H     -1.70706     9.24762     0.91369     107     442
445    O     -3.31955    -9.56836    -1.07377     106     446  447
446    H     -3.93028   -10.34546    -0.92147     107     445
447    H     -2.67348    -9.49827    -0.31370     107     445
448    O     -3.10104     4.19323    -8.79896     106     449  450
449    H     -3.04498     3.25347    -9.13625     107     448
450    H     -2.23453     4.66159    -8.97178     107     448
451    O      0.71640    -8.96002    -5.05079     106     452  453
452    H     -0.25064    -8.70651    -5.07561     107     451
453    H      1.17140    -8.46646    -4.30955     107     451
454    O      6.56581     5.18410     6.05024     106     455  456
455    H      7.18336     5.62579     5.39939     107     454
456    H      6.91427     4.27419     6.27545     107     454
457    O    -10.14535    -1.90848    -1.34467     106     458  459
458    H     -9.95468    -2.47253    -0.54121     107     457
459    H     -9.53937    -1.11296    -1.34480     107     457
460    O     -6.04400    -1.12801    -8.42153     106     461  462
461    H     -5.23466    -1.14016    -7.83425     107     460
462    H     -6.86724    -1.17022    -7.85536     107     460
463    O     -2.68304     1.64852    -9.94656     106     464  465
464    H     -2.59339     0.84679    -9.35559     107     463
465    H     -1.80855     1.83054   -10.39624     107     463
466    O     -0.26867     0.80544    10.39161     106     467  468
467    H     -0.86039     0.08241    10.74826     107     466
468    H      0.50573     0.39507     9.90996     107     466
469    O     -9.63694    -3.96058     0.57424     106     470  471
470    H     -8.83160    -4.28449     1.07079     107     469
471    H    -10.36359    -4.64492     0.63520     107     469
472    O     -3.42325    -6.62445    -7.43342     106     473  474
473    H     -3.92800    -5.98324    -6.85538     107     472
474    H     -3.22584    -6.19455    -8.31449     107     472
475    O     -9.95672     3.17762    -1.34924     106     476  477
476    H     -9.69931     3.24868    -2.31296     107     475
477    H     -9.58052     3.95536    -0.84559     107     475
478    O      5.60590     3.65881    -8.08918     106     479  480
479    H      6.22202     3.76299    -7.30840     107     478
480    H      5.77508     4.39241    -8.74742     107     478
481    O      5.63602    -6.98708     5.64054     106     482  483
482    H      5.84874    -6.08210     6.00907     107     481
483    H      5.22300    -6.88953     4.73503     107     481
484    O      9.59138     1.27233    -4.37253     106     485  486
485    H      9.05478     2.03699    -4.01558     107     484
486    H      9.59579     0.52788    -3.70483     107     484
487    O      7.86760     6.89655     1.50138     106     488  489
488    H      7.13561     6.77041     0.83179     107     487
489    H      8.54883     7.53037     1.13499     107     487
490    O      2.53731     3.63471     9.62811     106     491  492
491    H      2.00627     4.37071    10.04807     107     490
492    H      1.94533     3.09772     9.02705     107     490
493    O      7.14139    -2.70147    -7.30941     106     494  495
494    H      7.30262    -1.95522    -7.95532     107     493
495    H      6.47401    -3.33824    -7.69570     107     493
496    O      8.59867    -4.88622    -3.88682     106     497  498
497    H      8.02014    -5.49474    -4.43004     107     496
498    H      8.29036    -3.94198    -4.00268     107     496
499    O     -9.03119     5.57966    -0.31819     106     500  501
500    H     -9.33832     6.47996    -0.62672     107     499
501    H     -8.05870     5.47063    -0.52419     107     499
502    O      8.53892    -1.36136     6.09440     106     503  504
503    H      9.26645    -0.76210     6.42852     107     502
504    H      8.81504    -2.31582     6.20757     107     502
505    O      5.00631     7.13555    -6.21662     106     506  507
506    H      5.37463     7.09487    -7.14546     107     505
507    H      5.03170     6.22326    -5.80779     107     505
508    O     -0.52725    -6.68204     8.43272     106     509  510
509    H     -0.16474    -5.82716     8.06147     107     508
510    H     -1.42886    -6.86069     8.03871     107     508
511    O      7.70743     4.10023    -6.19890     106     512  513
512    H      7.31825     4.42576    -5.33713     107     511
513    H      8.41995     4.73273    -6.50278     107     511
514    O      2.93882    -3.68723     9.68763     106     515  516
515    H      3.85206    -4.09471     9.68572     107     514
516    H      2.33416    -4.22176     9.09712     107     514
517    O     -9.70111     1.54606     4.55442     106     518  519
518    H     -8.80514     1.90408     4.29153     107     517
519    H     -9.58103     0.73394     5.12546     107     517
520    O     -5.14284     2.13879     9.17879     106     521  522
521    H     -4.92523     1.64874    10.02292     107     520
522    H     -5.65945     2.96658     9.39772     107     520
523    O     -0.44353    10.24080    -3.20680     106     524  525
524    H     -1.21441    10.86963    -3.10495     107     523
525    H      0.41038    10.76090    -3.22726     107     523
526    O      8.47271     1.37500    -6.72148     106     527  528
527    H      8.87532     0.96267    -5.90419     107     526
528    H      7.87404     2.12988    -6.45352     107     526
529    O     -5.12421    -3.58162     8.93497     106     530  531
530    H     -4.40681    -4.27789     8.95939     107     529
531    H     -5.42715    -3.44819     7.99132     107     529
532    O    -10.71302    -0.66585     1.61144     106     533  534
533    H    -10.64093     0.32875     1.68656     107     532
534    H    -11.59694    -0.96408     1.97171     107     532
535    O     -9.63899    -3.27881    -3.92352     106     536  537
536    H    -10.24070    -2.68618    -4.45907     107     535
537    H     -9.77277    -3.09669    -2.94937     107     535
538    O      7.58287    -7.65336    -2.09776     106     539  540
539    H      7.51015    -7.44860    -1.12162     107     538
540    H      6.68190    -7.90046    -2.45447     107     538
541    O     -2.66154     8.05432     6.97257     106     542  543
542    H     -2.76732     7.34908     7.67364     107     541
543    H     -1.87330     7.83651     6.39700     107     541
544    O      4.86242     6.14020     7.72646     106     545  546
545    H      3.87111     6.11471     7.59713     107     544
546    H      5.31551     5.82435     6.89279     107     544
547    O     -7.32860     4.48265     6.70224     106     548  549
548    H     -7.67538     3.87767     7.41906     107     547
549    H     -7.61125     5.42257     6.89383     107     547
550    O     -8.87015    -0.43196     6.51221     106     551  552
551    H     -8.44056    -0.33544     7.41011     107     550
552    H     -8.32107    -1.04515     5.94425     107     550
553    O      4.97501    -9.15376     3.61246     106     554  555
554    H      4.80948    -8.20229     3.35292     107     553
555    H      4.26176    -9.45556     4.24511     107     553
556    O      9.85124    -4.59316    -1.37757     106     557  558
557    H      9.17997    -5.09376    -1.92425     107     556
558    H     10.75273    -4.67129    -1.80334     107     556
559    O     -2.08591    -1.36472    10.67675     106     560  561
```

560	H	-3.03828	-1.57308	10.89953	107	559	
561	H	-1.53771	-2.19832	10.74466	107	559	
562	O	-9.58521	4.87604	2.31496	106	563	564
563	H	-10.55096	4.98757	2.54939	107	562	
564	H	-9.44542	5.11708	1.35452	107	562	
565	O	2.87608	-9.23325	5.37894	106	566	567
566	H	2.79115	-9.24235	6.37532	107	565	
567	H	2.23203	-8.57119	4.99559	107	565	
568	O	-5.84249	-8.71523	-3.74618	106	569	570
569	H	-6.59171	-8.67955	-3.08478	107	568	
570	H	-5.14457	-8.04425	-3.49569	107	568	
571	O	9.58148	-5.44129	1.27346	106	572	573
572	H	10.20111	-4.88017	1.82231	107	571	
573	H	9.58159	-5.11182	0.32926	107	571	
574	O	2.96917	-2.01952	-10.45081	106	575	576
575	H	3.66267	-1.45628	-10.90010	107	574	
576	H	3.13361	-2.98287	-10.66288	107	574	
577	O	0.04015	1.04518	-11.07613	106	578	579
578	H	-0.08277	0.07258	-11.27360	107	577	
579	H	0.93902	1.19027	-10.66251	107	577	
580	O	-0.39842	-4.81285	-9.95951	106	581	582
581	H	-0.39885	-4.99949	-10.94197	107	580	
582	H	0.37901	-5.27502	-9.53282	107	580	
583	O	-6.84203	7.36891	4.80895	106	584	585
584	H	-6.30517	6.53897	4.65715	107	583	
585	H	-6.49691	7.84589	5.61731	107	583	
586	O	-3.57294	6.13870	8.59876	106	587	588
587	H	-3.87199	5.39728	7.99797	107	586	
588	H	-3.53392	5.80830	9.54183	107	586	
589	O	-0.77714	-7.29324	-8.35303	106	590	591
590	H	-0.86810	-7.78908	-9.21670	107	589	
591	H	-1.66619	-6.91998	-8.08781	107	589	
592	O	-4.14317	8.81050	-5.55907	106	593	594
593	H	-3.66635	8.17106	-6.16223	107	592	
594	H	-4.45346	8.32779	-4.74007	107	592	
595	O	2.17038	10.51882	2.94115	106	596	597
596	H	3.15535	10.69062	2.96068	107	595	
597	H	1.74445	11.09970	2.24746	107	595	
598	O	-8.32751	-1.61200	-7.19500	106	599	600
599	H	-9.14390	-1.13055	-7.51404	107	598	
600	H	-8.55235	-2.57098	-7.02217	107	598	
601	O	-5.39230	-3.89105	-9.00761	106	602	603
602	H	-6.13719	-4.37025	-8.54331	107	601	
603	H	-5.43229	-2.91708	-8.78435	107	601	
604	O	0.84649	9.85006	5.19810	106	605	606
605	H	1.53002	9.88362	5.92730	107	604	
606	H	1.29244	10.00221	4.31603	107	604	
607	O	-9.33986	-5.77211	-2.16031	106	608	609
608	H	-8.87295	-5.13312	-2.77166	107	607	
609	H	-9.90890	-6.39336	-2.69909	107	607	
610	O	1.71446	6.21733	-9.11516	106	611	612
611	H	2.02145	7.16660	-9.18366	107	610	
612	H	1.77057	5.78322	-10.01430	107	610	
613	O	7.78666	6.78328	4.43231	106	614	615
614	H	8.10082	6.85244	3.48543	107	613	
615	H	7.40955	7.66254	4.72339	107	613	
616	O	6.96021	-6.18264	-6.27285	106	617	618
617	H	6.32209	-6.69677	-6.84602	107	616	
618	H	7.64208	-6.80653	-5.89089	107	616	
619	O	-2.09497	-9.99251	4.72963	106	620	621
620	H	-1.52427	-9.89682	5.54524	107	619	
621	H	-2.67986	-10.79805	4.82478	107	619	
622	O	-3.11284	-7.93188	7.34606	106	623	624
623	H	-2.94333	-8.88245	7.08579	107	622	
624	H	-3.78426	-7.90379	8.08666	107	622	
625	O	6.72594	9.06454	-0.59051	106	626	627
626	H	7.65540	8.98280	-0.95033	107	625	
627	H	6.76016	9.42154	0.34301	107	625	
628	O	-4.68406	10.29944	-0.55911	106	629	630
629	H	-5.16866	11.11437	-0.24113	107	628	
630	H	-3.84558	10.18146	-0.02704	107	628	
631	O	0.30617	-1.70516	-11.20154	106	632	633
632	H	1.06648	-2.01521	-10.63070	107	631	
633	H	0.40273	-2.08633	-12.12102	107	631	
634	O	-3.14385	10.47338	3.32547	106	635	636
635	H	-2.68157	10.72341	2.47468	107	634	
636	H	-2.57325	10.73472	4.10404	107	634	
637	O	10.37389	1.60601	4.49024	106	638	639
638	H	10.48226	1.08920	5.33950	107	637	
639	H	11.04110	2.35052	4.46573	107	637	
640	O	-3.30154	-5.29973	-9.68569	106	641	642
641	H	-2.56785	-4.63088	-9.56567	107	640	
642	H	-4.18059	-4.87129	-9.47653	107	640	
643	O	9.97746	-3.58888	4.36751	106	644	645
644	H	10.38393	-3.71663	3.46279	107	643	
645	H	10.46358	-2.86123	4.85155	107	643	
646	O	-7.26093	9.02547	0.45484	106	647	648
647	H	-7.24132	8.49646	-0.39357	107	646	
648	H	-6.36265	8.98670	0.89261	107	646	
649	O	-6.98489	-5.43810	-7.50736	106	650	651
650	H	-7.75060	-4.94057	-7.09970	107	649	
651	H	-6.26189	-5.55342	-6.82615	107	649	
652	O	2.65622	11.00937	-2.06498	106	653	654
653	H	3.60676	11.32003	-2.07097	107	652	
654	H	2.07942	11.69281	-2.51250	107	652	
655	O	-5.10778	0.47384	-10.45962	106	656	657
656	H	-4.16189	0.75186	-10.29220	107	655	
657	H	-5.43622	-0.07178	-9.68858	107	655	
658	O	-7.37621	0.26382	8.93690	106	659	660
659	H	-7.77362	-0.29027	9.66843	107	658	
660	H	-6.45362	0.54811	9.19783	107	658	
661	O	-7.60815	-8.25046	3.19554	106	662	663
662	H	-8.33070	-8.02275	2.54275	107	661	
663	H	-6.84331	-7.61652	3.08065	107	661	
664	O	3.36166	-11.10103	-0.35316	106	665	666
665	H	3.52068	-10.41220	-1.06046	107	664	
666	H	3.81308	-11.95497	-0.61212	107	664	
667	O	7.72148	-0.35704	-8.65684	106	668	669
668	H	8.19495	-0.11577	-9.50399	107	667	
669	H	7.88088	0.35390	-7.97186	107	667	
670	O	-5.49239	-8.09202	-6.42114	106	671	672
671	H	-5.41379	-8.14158	-5.42544	107	670	
672	H	-4.62704	-7.77371	-6.80833	107	670	
673	O	5.64982	-4.37255	-9.15759	106	674	675
674	H	5.74967	-4.02822	-10.09114	107	673	
675	H	6.27546	-5.13988	-9.01669	107	673	
676	O	3.47950	-10.32996	-4.33869	106	677	678
677	H	3.34726	-9.60967	-5.01970	107	676	
678	H	2.60448	-10.77660	-4.15179	107	676	
679	O	-7.75828	8.48654	-2.41645	106	680	681
680	H	-8.38044	8.09746	-3.09585	107	679	
681	H	-6.85006	8.08263	-2.52630	107	679	
682	O	7.64457	2.39547	8.60831	106	683	684
683	H	8.37479	3.07868	8.61593	107	682	
684	H	7.39643	2.18343	7.66304	107	682	
685	O	4.86445	-7.44412	-7.70127	106	686	687
686	H	4.37994	-8.25704	-7.37803	107	685	
687	H	4.25748	-6.90431	-8.28458	107	685	
688	O	5.45361	-10.40565	1.40012	106	689	690
689	H	4.58117	-10.56814	0.93912	107	688	
690	H	5.33155	-9.71122	2.10930	107	688	
691	O	7.50425	7.61598	-5.06519	106	692	693
692	H	7.12717	7.74673	-4.14826	107	691	
693	H	6.77470	7.71200	-5.74239	107	691	
694	O	-3.47367	-5.55767	9.81873	106	695	696
695	H	-3.04717	-6.03018	10.59003	107	694	
696	H	-2.76371	-5.22366	9.19868	107	694	
697	O	2.49616	8.82032	7.50527	106	698	699
698	H	3.48963	8.81452	7.61953	107	697	

```
699    H     2.17843     7.89371     7.30399     107     697
700    O    -8.16049     5.48833    -6.49279     106     701   702
701    H    -7.49562     5.81872    -7.16277     107     700
702    H    -8.83923     4.91492    -6.95167     107     700
703    O     0.66880    -3.60847    11.22862     106     704   705
704    H     1.54300    -3.96323    10.89697     107     703
705    H     0.11820    -4.36189    11.58816     107     703
706    O     2.15481    -6.35087    -9.68796     106     707   708
707    H     2.15399    -7.12654   -10.31915     107     706
708    H     2.42679    -5.52268   -10.17807     107     706
709    O     1.79731    -8.50953     8.02874     106     710   711
710    H     1.07028    -7.85429     8.23407     107     709
711    H     2.39015    -8.61075     8.82771     107     709
712    O    -0.32947   -11.81304    -1.16966     106     713   714
713    H    -0.89098   -11.21037    -0.60260     107     712
714    H     0.46044   -12.12621    -0.64238     107     712
715    O     5.56451     4.04531     9.75265     106     716   717
716    H     6.09529     3.39695     9.20679     107     715
717    H     4.65993     4.16369     9.34300     107     715
718    O     1.97930    -8.93434    -7.64476     106     719   720
719    H     1.28570    -8.60373    -8.28483     107     718
720    H     1.67143    -8.77292    -6.70708     107     718
721    O     0.83078     9.53249    -6.96092     106     722   723
722    H     1.17603    10.40522    -7.30619     107     721
723    H    -0.13694     9.44055    -7.19568     107     721
724    O     3.67363     9.54733    -6.18973     106     725   726
725    H     3.91446     8.58243    -6.08476     107     724
726    H     2.67828     9.64387    -6.19370     107     724
727    O     5.22845    -4.97307     9.41355     106     728   729
728    H     5.76109    -4.13740     9.54774     107     727
729    H     5.38646    -5.59567    10.18001     107     727
730    O     0.63358     5.88311    10.44309     106     731   732
731    H    -0.09931     5.72523     9.78126     107     730
732    H     0.57859     5.19929    11.17071     107     730
733    O     5.97398    -9.85291    -3.32131     106     734   735
734    H     6.42229    -9.99886    -4.20322     107     733
735    H     4.98938    -9.74787    -3.46129     107     733
736    O    -9.22395    -4.13061    -6.46202     106     737   738
737    H    -9.61115    -4.00987    -5.54793     107     736
738    H    -9.92074    -3.92427    -7.14904     107     736
739    O     1.30558   -11.23456     4.10142     106     740   741
740    H     0.79141   -11.77572     4.76689     107     739
741    H     1.95863   -10.64880     4.58151     107     739
742    O     8.02436    -8.91263     1.63710     106     743   744
743    H     7.43036    -9.71270     1.55286     107     742
744    H     7.46558    -8.09708     1.78779     107     742
745    O     6.65901    -0.06177    10.08328     106     746   747
746    H     6.92038     0.73389     9.53677     107     745
747    H     5.93496     0.19653    10.72289     107     745
748    O    -4.70341    -2.02533    10.92446     106     749   750
749    H    -4.97803    -2.60600    11.69091     107     748
750    H    -4.85625    -2.51339    10.06511     107     748
751    O    -6.08506     6.44831    -8.22790     106     752   753
752    H    -6.04033     7.27106    -8.79460     107     751
753    H    -5.22631     6.34183    -7.72661     107     751
754    O     0.10597     3.55227    11.59503     106     755   756
755    H     0.66889     2.72600    11.61586     107     754
756    H    -0.81626     3.33539    11.91519     107     754
757    O    -8.38080     2.59258     8.34787     106     758   759
758    H    -8.94015     2.90555     9.11550     107     757
759    H    -8.00690     1.68845     8.55477     107     757
760    O     9.23871    -5.44013     5.98950     106     761   762
761    H     9.39642    -4.73017     5.30310     107     760
762    H     8.71746    -6.18919     5.58052     107     760
763    O    -2.58115     7.79998    -9.14457     106     764   765
764    H    -2.09649     7.07685    -8.65237     107     763
765    H    -2.63247     8.61721    -8.57050     107     763
766    O     4.26275     0.66456    11.49562     106     767   768
767    H     3.45831     0.65521    10.90160     107     766
768    H     4.32814     1.55085    11.95418     107     766
769    O    -5.60267     8.48088     6.84917     106     770   771
770    H    -4.64703     8.20061     6.75812     107     769
771    H    -5.64333     9.42715     7.17008     107     769
772    O   -11.10462    -2.22559     4.99822     106     773   774
773    H   -10.64145    -1.77260     5.76002     107     772
774    H   -10.47272    -2.86105     4.55441     107     772
775    O   -11.50752     0.89403    -4.25696     106     776   777
776    H   -11.89991     1.78168    -4.49814     107     775
777    H   -11.90705     0.57552    -3.39731     107     775
778    O    -8.61487     2.84674    -8.29033     106     779   780
779    H    -8.03844     3.10554    -9.06545     107     778
780    H    -9.54916     2.68626    -8.60875     107     778
781    O     1.34611   -12.20982     1.56294     106     782   783
782    H     1.33361   -11.90961     2.51678     107     781
783    H     2.25508   -12.05371     1.17630     107     781
784    O     6.38433    -2.67872    10.27465     106     785   786
785    H     6.21668    -1.72391    10.02908     107     784
786    H     7.28213    -2.95779     9.93385     107     784
787    O    -5.87648    -7.14432     8.26721     106     788   789
788    H    -5.79413    -6.35899     8.88084     107     787
789    H    -6.55215    -6.94355     7.55782     107     787
790    O    -0.28097   -10.27172     6.93086     106     791   792
791    H     0.25141   -11.11016     7.04752     107     790
792    H     0.33651    -9.50883     6.73905     107     790
793    O     5.24419    -0.77896   -11.17854     106     794   795
794    H     5.90479    -0.13962   -10.78496     107     793
795    H     4.83969    -0.37667   -11.99989     107     793
796    O    -8.30098    -8.92759    -2.32941     106     797   798
797    H    -8.61050    -9.86923    -2.19684     107     796
798    H    -8.22552    -8.47347    -1.44164     107     796
799    O    -5.06660     4.34392   -10.52650     106     800   801
800    H    -4.50230     4.19788    -9.71391     107     799
801    H    -4.81522     5.21169   -10.95526     107     799
802    O    -9.58783     6.68706     4.44828     106     803   804
803    H    -9.58974     6.34824     3.50739     107     802
804    H    -8.68876     6.53032     4.85712     107     802
805    O     1.10104   -11.92358    -3.40794     106     806   807
806    H     0.42880   -11.86051    -2.67025     107     805
807    H     0.62853   -11.93677    -4.28920     107     805
808    O   -12.30988    -0.09300    -1.88525     106     809   810
809    H   -13.13547    -0.65536    -1.83818     107     808
810    H   -11.51823    -0.63971    -1.61237     107     808
811    O    -8.90321    -8.63522     0.71682     106     812   813
812    H    -9.46151    -7.86815     0.40066     107     811
813    H    -9.39380    -9.49211     0.55830     107     811
814    O    -4.62693     0.72810    11.50949     106     815   816
815    H    -4.66911    -0.24785    11.29548     107     814
816    H    -4.87111     0.86977    12.46885     107     814
817    O    -2.08722     9.84074    -7.34433     106     818   819
818    H    -2.37231    10.01902    -6.40253     107     817
819    H    -1.75194    10.68768    -7.75703     107     817
820    O   -11.23249    -1.69261    -5.10278     106     821   822
821    H   -11.83247    -1.81734    -5.89305     107     820
822    H   -11.20471    -0.72416    -4.85499     107     820
823    O    11.94778    -0.81145     3.45633     106     824   825
824    H    12.76436    -1.19336     3.88924     107     823
825    H    11.74950     0.08546     3.85169     107     823
826    O    12.16867     2.83041    -1.27600     106     827   828
827    H    13.14777     3.02102    -1.20473     107     826
828    H    12.02844     1.84775    -1.39757     107     826
829    O    -1.36452   -12.40107     1.82452     106     830   831
830    H    -1.29637   -12.20888     2.80354     107     829
831    H    -0.45048   -12.39207     1.41890     107     829
832    O     8.56708    -7.83398    -4.87601     106     833   834
833    H     8.21881    -7.98022    -3.95005     107     832
834    H     9.55952    -7.95688    -4.88208     107     832
835    O    11.53281     5.24634     0.38036     106     836   837
836    H    11.93765     4.56983    -0.23486     107     835
837    H    10.68033     4.88510     0.75833     107     835
```

```
838    O    -3.48097     4.96867    11.02531     106     839  840
839    H    -3.41034     4.02881    11.35958     107     838
840    H    -3.76021     5.56889    11.77486     107     838
841    O    -5.14225   -11.51245    -0.48333     106     842  843
842    H    -5.87755   -11.64271    -1.14848     107     841
843    H    -5.53450   -11.26785     0.40344     107     841
844    O    -8.19857    -6.79349     6.82152     106     845  846
845    H    -8.11466    -7.78667     6.90290     107     844
846    H    -8.71323    -6.56921     5.99394     107     844
847    O    -9.30974     7.34379    -4.50711     106     848  849
848    H   -10.13769     6.97110    -4.08798     107     847
849    H    -8.80697     6.60900    -4.96250     107     847
850    O     4.63214     2.71482   -11.53160     106     851  852
851    H     3.95842     2.44404   -10.84398     107     850
852    H     5.04227     3.58866   -11.27034     107     850
853    O    -6.45261   -10.78441     1.76778     106     854  855
854    H    -5.72163   -10.97514     2.42302     107     853
855    H    -7.22579   -10.36520     2.24373     107     853
856    O    11.16820    -4.08813    -4.48513     106     857  858
857    H    10.34239    -4.59104    -4.22980     107     856
858    H    11.85233    -4.18155    -3.76173     107     856
859    O    11.79399    -4.03363     2.21548     106     860  861
860    H    12.55239    -4.64687     1.99455     107     859
861    H    12.01185    -3.10859     1.90419     107     859
862    O     6.62571     9.64391     4.88370     106     863  864
863    H     6.08750     9.50535     5.71508     107     862
864    H     7.45125    10.16358     5.10386     107     862
865    O    -2.88109     2.56048    12.10683     106     866  867
866    H    -3.00099     2.43320    13.09146     107     865
867    H    -3.35396     1.82856    11.61615     107     865
868    O     4.75525    11.32203     3.30940     106     869  870
869    H     5.35875    12.11761     3.36329     107     868
870    H     5.18124    10.54821     3.77820     107     868
871    O    -5.20743    11.22386    -3.34026     106     872  873
872    H    -4.77488    10.67521    -4.05575     107     871
873    H    -5.32409    10.66691    -2.51791     107     871
874    O     3.41366    -4.58698   -11.35609     106     875  876
875    H     3.12044    -5.37493   -11.89758     107     874
876    H     4.24832    -4.20315   -11.75113     107     874
877    O    -2.49854   -10.54527    -6.84009     106     878  879
878    H    -3.48325   -10.62563    -6.99483     107     877
879    H    -2.33111    -9.92463    -6.07404     107     877
880    O     2.09058     4.93380   -11.56184     106     881  882
881    H     1.47687     4.42305   -12.16397     107     880
882    H     3.02144     4.89638   -11.92536     107     880
883    O     8.48387    -8.12014     5.19784     106     884  885
884    H     8.49314    -8.41905     4.24356     107     883
885    H     7.55191    -7.86887     5.45933     107     883
886    O     5.44639    -8.41614     7.96525     106     887  888
887    H     5.60058    -7.90773     7.11801     107     886
888    H     6.28260    -8.41132     8.51369     107     886
889    O     5.50541     5.37815   -10.17147     106     890  891
890    H     5.86829     6.23812    -9.81256     107     889
891    H     5.07740     5.54216   -11.06027     107     889
892    O   -10.08674    -6.42996     4.57383     106     893  894
893    H    -9.48721    -6.38382     3.77476     107     892
894    H   -10.73328    -7.18467     4.46225     107     892
895    O    -1.82947    11.55737     5.29147     106     896  897
896    H    -2.29088    11.32779     6.14848     107     895
897    H    -0.86572    11.29732     5.35179     107     895
898    O    -6.46839     4.71921    10.05574     106     899  900
899    H    -6.96987     5.27875     9.38580     107     898
900    H    -6.53996     5.13095    10.96425     107     898
901    O     0.04842   -11.47093    -6.01853     106     902  903
902    H    -0.77276   -11.57565    -6.57956     107     901
903    H     0.18661   -10.50327    -5.80737     107     901
904    O    10.98105     0.41900     6.76483     106     905  906
905    H    11.28252     0.85161     7.61455     107     904
906    H    11.21047    -0.55413     6.78665     107     904
907    O    -7.31306     6.84470     8.17608     106     908  909
908    H    -7.95384     7.41912     8.68551     107     907
909    H    -6.56562     7.40912     7.82559     107     907
910    O     5.17715     9.20002     7.48897     106     911  912
911    H     5.69452     9.81521     8.08390     107     910
912    H     5.38284     8.25166     7.73055     107     910
913    O    -4.47109   -11.07504    -5.06720     106     914  915
914    H    -4.92241   -10.46597    -4.41497     107     913
915    H    -4.90926   -11.97362    -5.04227     107     913
916    O    11.22518     0.36423    -6.59528     106     917  918
917    H    11.05425     0.69705    -5.66788     107     916
918    H    11.28959    -0.63367    -6.58465     107     916
919    O    -8.97649    -7.30998    -5.97642     106     920  921
920    H    -8.52361    -6.69440    -6.62143     107     919
921    H    -8.55711    -8.21624    -6.03018     107     919
922    O    -2.40990   -12.39773    -3.43060     106     923  924
923    H    -2.52848   -12.33818    -2.43940     107     922
924    H    -3.14459   -11.89393    -3.88500     107     922
925    O     9.36726     9.02328    -0.82063     106     926  927
926    H    10.16776     8.64747    -1.28755     107     925
927    H     9.59305     9.20101     0.13723     107     925
928    O    10.60806     6.61650    -3.90955     106     929  930
929    H     9.63667     6.83307    -4.00740     107     928
930    H    10.89718     6.79900    -2.96979     107     928
931    O     7.23280     6.57023     8.82946     106     932  933
932    H     7.73136     5.80773     8.41705     107     931
933    H     6.25656     6.47419     8.63499     107     931
934    O     6.93719     7.18636    -8.41818     106     935  936
935    H     7.86448     6.90032    -8.17657     107     934
936    H     6.97340     8.06183    -8.90017     107     934
937    O   -11.98506     2.86700     4.66325     106     938  939
938    H   -11.17448     2.28714     4.58083     107     937
939    H   -11.78709     3.77204     4.28671     107     937
940    O     9.67864    -3.73297    -8.16646     106     941  942
941    H     8.84342    -3.59303    -7.63457     107     940
942    H     9.68550    -4.66139    -8.53801     107     940
943    O   -12.16937    -4.64363    -2.28468     106     944  945
944    H   -12.10796    -5.41489    -1.65108     107     943
945    H   -11.38823    -4.03494    -2.14546     107     943
946    O   -11.34347     5.79214    -3.31182     106     947  948
947    H   -12.22079     6.23871    -3.13589     107     946
948    H   -11.50344     4.86403    -3.64804     107     946
949    O    -4.41739   -11.88748     3.59409     106     950  951
950    H    -4.96406   -11.95966     4.42835     107     949
951    H    -3.98032   -12.76682     3.40494     107     949
952    O   -11.67376    -6.10191     1.19136     106     953  954
953    H   -12.01725    -6.65337     0.43113     107     952
954    H   -11.57163    -6.67862     2.00194     107     952
955    O     5.05853    12.06246    -2.08635     106     956  957
956    H     5.91271    11.98451    -1.57218     107     955
957    H     5.25945    12.07877    -3.06585     107     955
958    O    -7.56262    -1.81437   -10.79969     106     959  960
959    H    -7.33934    -1.48881    -9.88089     107     958
960    H    -7.43027    -1.07274   -11.45736     107     958
961    O    11.27411    -2.23191     6.54541     106     962  963
962    H    12.14125    -2.46729     6.10640     107     961
963    H    11.21830    -2.68298     7.43619     107     961
964    O    -9.90502    -4.59495     7.62862     106     965  966
965    H   -10.43963    -5.35026     7.24947     107     964
966    H    -9.00715    -4.56857     7.18908     107     964
967    O     9.32782     4.52876     8.29186     106     968  969
968    H     9.60495     5.00855     7.45936     107     967
969    H    10.11920     4.42129     8.89370     107     967
970    O     9.78215     6.58957     6.28142     106     971  972
971    H     8.83628     6.62315     5.95849     107     970
972    H    10.40348     6.66892     5.50185     107     970
973    O    11.38215    -2.35990    -6.64402     106     974  975
974    H    11.08039    -2.91283    -5.86731     107     973
975    H    10.74536    -2.47963    -7.40574     107     973
976    O    -2.88915    10.70101     7.54067     106     977  978
```

```
977    H     -2.60511    10.85945     8.48634     107     976
978    H     -2.81704     9.72610     7.32991     107     976
979    O     -0.83969    -5.66809    12.11802     106     980  981
980    H     -1.76234    -5.95115    12.38004     107     979
981    H     -0.39098    -6.41189    11.62255     107     979
982    O      3.91466    -7.85170    10.12792     106     983  984
983    H      4.39015    -8.46555    10.75814     107     982
984    H      4.35863    -7.88422     9.23245     107     982
985    O      7.76241     2.99308   -10.57039     106     986  987
986    H      7.26934     3.69677   -10.05876     107     985
987    H      7.44092     2.98264   -11.51727     107     985
988    O     -0.42087    -8.11122    10.82881     106     989  990
989    H     -0.17790    -9.07517    10.72006     107     988
990    H     -0.46491    -7.67517     9.92994     107     988
991    O      9.05359    -3.12734     9.46850     106     992  993
992    H      9.61791    -2.91689    10.26683     107     991
993    H      9.40031    -3.95315     9.02365     107     991
994    O      4.92760    11.62085    -4.90923     106     995  996
995    H      4.47071    12.34169    -5.43049     107     994
996    H      4.74099    10.73420    -5.33242     107     994
997    O     10.83716    -7.89521     2.41181     106     998  999
998    H     10.14333    -8.58688     2.21119     107     997
999    H     10.49420    -6.99322     2.14944     107     997
1000   O     -5.72398   -10.86818     5.71224     106     1001 1002
1001   H     -5.74292   -11.61830     6.37332     107     1000
1002   H     -6.64166   -10.48150     5.62057     107     1000
1003   O    -11.97980     3.75668    -5.13004     106     1004 1005
1004   H    -12.92638     3.76034    -5.45256     107     1003
1005   H    -11.37557     4.06068    -5.86662     107     1003
1006   O      0.43090    10.06445     9.22770     106     1007 1008
1007   H     -0.11196     9.33048     9.63590     107     1006
1008   H      1.12914     9.66988     8.63034     107     1006
1009   O    -10.61457    -7.80136    -3.58034     106     1010 1011
1010   H     -9.73577    -8.15398    -3.25873     107     1009
1011   H    -10.60224    -7.73549    -4.57813     107     1009
1012   O    -12.17095     5.31867     2.95773     106     1013 1014
1013   H    -12.66652     5.30360     2.08926     107     1012
1014   H    -12.45029     6.11987     3.48698     107     1012
1015   O      9.75011     9.30808     1.91462     106     1016 1017
1016   H      9.18308     9.99058     2.37587     107     1015
1017   H     10.68561     9.36078     2.26410     107     1015
1018   O    -10.49665    -0.72030    -8.66895     106     1019 1020
1019   H    -10.28187     0.23734    -8.86092     107     1018
1020   H    -11.46883    -0.88391    -8.83668     107     1018
1021   O     -7.72139     3.54677   -10.72633     106     1022 1023
1022   H     -6.82557     3.83946   -10.39184     107     1021
1023   H     -8.31166     4.34581   -10.84106     107     1021
1024   O      5.78572    -3.27152   -11.94490     106     1025 1026
1025   H      6.03467    -3.16405   -12.90747     107     1024
1026   H      5.65145    -2.37032   -11.53276     107     1024
1027   O      8.30695   -10.80398    -1.64640     106     1028 1029
1028   H      9.00481   -10.72786    -2.35861     107     1027
1029   H      7.44068   -10.43964    -1.98831     107     1027
1030   O     -1.12588    -8.43578   -10.70179     106     1031 1032
1031   H     -1.31416    -7.89777   -11.52347     107     1030
1032   H     -1.86544    -9.09320   -10.55718     107     1030
1033   O     11.50874     7.35185    -1.41975     106     1034 1035
1034   H     12.34286     7.85938    -1.20360     107     1033
1035   H     11.44026     6.55312    -0.82191     107     1033
1036   O     -8.35419    -1.91085    10.74672     106     1037 1038
1037   H     -7.56379    -2.52118    10.69369     107     1036
1038   H     -9.19349    -2.45396    10.77263     107     1036
1039   O      3.70412    11.55721     6.46156     106     1040 1041
1040   H      4.35586    12.23649     6.79903     107     1039
1041   H      4.12928    10.65215     6.47463     107     1039
1042   O     -5.88754    -3.83747   -11.91426     106     1043 1044
1043   H     -5.31093    -4.08534   -11.13571     107     1042
1044   H     -6.68122    -3.32236   -11.59053     107     1042
1045   O     -0.37381     8.41042    10.91517     106     1046 1047
1046   H     -0.34373     8.36789    11.91384     107     1045
1047   H      0.15257     7.65075    10.53324     107     1045
1048   O      9.68115     5.82459    -7.83505     106     1049 1050
1049   H      9.95641     5.17917    -8.54760     107     1048
1050   H     10.49263     6.15426    -7.35246     107     1048
1051   O     -2.91406   -11.13011     7.59191     106     1052 1053
1052   H     -3.21754   -12.05160     7.34940     107     1051
1053   H     -1.93929   -11.03616     7.38931     107     1051
1054   O      6.29900   -11.53228     4.38495     106     1055 1056
1055   H      6.02193   -10.63292     4.04663     107     1054
1056   H      6.05042   -11.61644     5.34994     107     1054
1057   O     -9.63195     9.52164     2.99302     106     1058 1059
1058   H     -9.03953     8.85082     3.43919     107     1057
1059   H     -9.07003    10.22355     2.55526     107     1057
1060   O     -7.75044    11.42100    -1.65876     106     1061 1062
1061   H     -7.26521    11.45479    -2.53253     107     1060
1062   H     -7.96692    10.47084    -1.43428     107     1060
1063   O      4.42970     5.53035    11.96571     106     1064 1065
1064   H      4.59040     5.03010    11.11484     107     1063
1065   H      4.02883     6.42248    11.75718     107     1063
1066   O      8.46544    -3.18279   -10.60883     106     1067 1068
1067   H      7.50907    -3.33751   -10.85679     107     1066
1068   H      8.61770    -3.48038    -9.66632     107     1066
1069   O     -6.17899    -5.81074    11.03441     106     1070 1071
1070   H     -5.26721    -5.72154    10.63344     107     1069
1071   H     -6.29628    -5.12388    11.75170     107     1069
1072   O     -5.78939    10.25642    -7.44385     106     1073 1074
1073   H     -6.78346    10.28982    -7.33999     107     1072
1074   H     -5.39830     9.58188    -6.72482     107     1072
1075   O     -0.70540     8.67060   -10.87343     106     1076 1077
1076   H     -1.42798     8.20307   -10.36417     107     1075
1077   H     -0.97502     9.61916   -11.03959     107     1075
1078   O      7.68038    -6.09093    -9.98361     106     1079 1080
1079   H      8.59552    -6.22204    -9.60232     107     1078
1080   H      7.17755    -6.95460    -9.94780     107     1078
1081   O    -10.37647     6.04472     7.25210     106     1082 1083
1082   H    -10.99652     5.30006     7.00500     107     1081
1083   H    -10.25560     6.65217     6.46695     107     1081
1084   O     -5.29502     7.82725    10.39675     106     1085 1086
1085   H     -5.91422     7.37270    11.03707     107     1084
1086   H     -4.78191     7.13898     9.88385     107     1084
1087   O     -7.73427    -7.54985    -9.02471     106     1088 1089
1088   H     -7.16431    -7.14506    -8.30962     107     1087
1089   H     -8.29183    -6.83686    -9.44996     107     1087
1090   O     -8.51087    -9.82766     5.34739     106     1091 1092
1091   H     -9.43741   -10.12107     5.11180     107     1090
1092   H     -8.14919    -9.24773     4.61737     107     1090
1093   O      2.09890     8.95129   -10.64792     106     1094 1095
1094   H      2.36426     9.82180   -10.23337     107     1093
1095   H      1.10265     8.90796   -10.72319     107     1093
1096   O     -7.82289   -10.47982    -5.34485     106     1097 1098
1097   H     -7.11982    -9.93226    -4.89105     107     1096
1098   H     -7.61744   -10.54285    -6.32152     107     1096
1099   O      3.69808    -9.89960    -9.33156     106     1100 1101
1100   H      2.97756    -9.50265    -8.76293     107     1099
1101   H      3.29082   -10.52523    -9.99698     107     1099
1102   O     -7.42766     0.85025   -11.99240     106     1103 1104
1103   H     -7.55753     1.40185   -12.81637     107     1102
1104   H     -7.04761     1.42187   -11.26516     107     1102
1105   O      7.23293   -12.23113     0.41975     106     1106 1107
1106   H      7.58142   -11.86307    -0.44231     107     1105
1107   H      6.50473   -11.63893     0.76483     107     1105
1108   O     -4.04618     6.95548   -11.66392     106     1109 1110
1109   H     -3.85076     7.83040   -12.10709     107     1108
1110   H     -3.53178     6.89288   -10.80861     107     1108
1111   O      2.23884    -6.83459    12.25727     106     1112 1113
1112   H      1.53248    -7.50873    12.47328     107     1111
1113   H      2.73499    -7.12254    11.43812     107     1111
1114   O     -8.34775     3.10742    11.06620     106     1115 1116
1115   H     -7.60277     3.66447    10.69911     107     1114
1116   H     -8.53389     3.38011    12.01015     107     1114
1117   O      4.72825     8.28260   -10.50706     106     1118 1119
1118   H      3.82268     8.60134   -10.78709     107     1117
```

1119	H	5.31267	9.06996	-10.31065	107	1117	
1120	O	11.43589	-6.75557	5.25089	106	1121	1122
1121	H	10.60326	-6.23048	5.42715	107	1120	
1122	H	11.32583	-7.28174	4.40762	107	1120	
1123	O	-3.22829	-6.78123	-12.10614	106	1124	1125
1124	H	-3.49026	-6.31814	-11.25939	107	1123	
1125	H	-3.96966	-7.38518	-12.39881	107	1123	
1126	O	11.19316	3.26077	-8.22723	106	1127	1128
1127	H	10.72378	2.47539	-7.82361	107	1126	
1128	H	10.79988	3.45874	-9.12511	107	1126	
1129	O	2.14016	11.96440	-7.39739	106	1130	1131
1130	H	3.03593	12.36921	-7.21361	107	1129	
1131	H	1.45503	12.38813	-6.80486	107	1129	
1132	O	0.36251	-10.58564	-9.51336	106	1133	1134
1133	H	-0.02258	-9.69125	-9.74098	107	1132	
1134	H	0.70075	-11.02451	-10.34585	107	1132	
1135	O	7.54600	3.44006	11.68319	106	1136	1137
1136	H	8.16000	2.90889	11.09931	107	1135	
1137	H	6.65977	3.54028	11.23085	107	1135	
1138	O	1.28023	12.21232	7.40983	106	1139	1140
1139	H	2.08668	11.83869	6.95147	107	1138	
1140	H	0.89127	11.51964	8.01724	107	1138	
1141	O	-5.73438	8.85446	-9.63179	106	1142	1143
1142	H	-4.91001	9.02382	-10.17197	107	1141	
1143	H	-5.88500	9.61897	-9.00498	107	1141	
1144	O	2.89179	8.07874	11.47206	106	1145	1146
1145	H	2.47309	7.44552	10.82108	107	1144	
1146	H	2.31523	8.14945	12.28607	107	1144	
1147	O	5.51020	-11.12759	7.20287	106	1148	1149
1148	H	5.83993	-10.96176	8.13231	107	1147	
1149	H	5.06449	-10.30264	6.85521	107	1147	
1150	O	-6.78372	-9.85961	-8.05508	106	1151	1152
1151	H	-7.19342	-9.38381	-8.83340	107	1150	
1152	H	-6.20648	-9.22412	-7.54225	107	1150	
1153	O	7.32391	-10.76809	-5.98586	106	1154	1155
1154	H	7.83432	-10.21097	-6.64096	107	1153	
1155	H	7.65743	-11.71030	-6.01855	107	1153	
1156	O	9.44260	10.32377	-3.64233	106	1157	1158
1157	H	8.76925	9.83837	-4.20004	107	1156	
1158	H	9.05063	10.52188	-2.74391	107	1156	
1159	O	10.02503	0.96716	10.33543	106	1160	1161
1160	H	9.21267	0.54248	9.93569	107	1159	
1161	H	10.70198	0.26112	10.54356	107	1159	
1162	O	5.05336	10.70877	-8.31188	106	1163	1164
1163	H	5.01344	11.60218	-7.86433	107	1162	
1164	H	4.45630	10.06754	-7.82978	107	1162	
1165	O	10.92230	-4.75742	8.16885	106	1166	1167
1166	H	10.24999	-5.19498	7.57169	107	1165	
1167	H	11.79868	-5.23227	8.08824	107	1165	
1168	O	8.51100	-8.92004	-7.54124	106	1169	1170
1169	H	8.63463	-8.36955	-6.71558	107	1168	
1170	H	9.31234	-9.50288	-7.67628	107	1168	
1171	O	-11.45871	-3.64755	-7.96960	106	1172	1173
1172	H	-11.48591	-3.51672	-8.96068	107	1171	
1173	H	-12.30536	-3.30237	-7.56451	107	1171	
1174	O	11.28375	-0.60620	-9.14595	106	1175	1176
1175	H	10.58728	-0.35213	-9.81707	107	1174	
1176	H	11.04965	-0.21201	-8.25721	107	1174	
1177	O	4.87688	-11.54095	-7.34385	106	1178	1179
1178	H	5.61090	-11.04380	-6.88114	107	1177	
1179	H	4.50856	-10.97852	-8.08418	107	1177	
1180	O	9.57111	8.58987	-6.84585	106	1181	1182
1181	H	8.80349	7.98889	-6.62302	107	1180	
1182	H	10.40943	8.04877	-6.91296	107	1180	
1183	O	-5.20510	-10.18794	9.14233	106	1184	1185
1184	H	-4.45525	-10.53333	8.57798	107	1183	
1185	H	-5.45236	-9.26708	8.84079	107	1183	
1186	O	8.11281	11.79791	2.81657	106	1187	1188
1187	H	7.48419	12.33744	3.37674	107	1186	
1188	H	7.95430	11.99915	1.84991	107	1186	
1189	O	-11.28202	9.19699	-1.18846	106	1190	1191
1190	H	-11.62212	9.49263	-2.08119	107	1189	
1191	H	-10.30515	9.39981	-1.12012	107	1189	
1192	O	-11.16626	2.21541	-9.08943	106	1193	1194
1193	H	-11.66189	2.47672	-9.91776	107	1192	
1194	H	-11.81074	2.12421	-8.33022	107	1192	
1195	O	-12.31713	-7.79113	-0.92041	106	1196	1197
1196	H	-12.13778	-8.08633	-1.85890	107	1195	
1197	H	-12.66852	-8.56252	-0.38980	107	1195	
1198	O	6.17253	-6.35130	11.60442	106	1199	1200
1199	H	6.62393	-5.84298	12.33784	107	1198	
1200	H	5.71735	-7.15519	11.98732	107	1198	
1201	O	0.90806	-10.62812	10.11196	106	1202	1203
1202	H	0.67399	-10.47179	9.15236	107	1201	
1203	H	1.53885	-11.40116	10.17947	107	1201	
1204	O	-11.53070	-8.48172	3.11250	106	1205	1206
1205	H	-12.46208	-8.34968	2.77318	107	1204	
1206	H	-11.51942	-9.23439	3.77086	107	1204	
1207	O	-11.54167	5.22006	-7.43454	106	1208	1209
1208	H	-10.87631	5.68191	-8.02110	107	1207	
1209	H	-12.21241	4.74319	-8.00267	107	1207	
1210	O	12.33744	3.93402	7.09933	106	1211	1212
1211	H	12.36161	3.18611	7.76275	107	1210	
1212	H	12.35530	3.55830	6.17274	107	1210	
1213	O	9.53030	-0.26128	-11.20640	106	1214	1215
1214	H	9.77716	0.61072	-11.62916	107	1213	
1215	H	9.72700	-1.00752	-11.84241	107	1213	
1216	O	6.85439	-8.64922	-9.88634	106	1217	1218
1217	H	5.94609	-8.52938	-9.48547	107	1216	
1218	H	7.47897	-9.01122	-9.19431	107	1216	
1219	O	-9.43989	-11.25341	-1.72721	106	1220	1221
1220	H	-9.74329	-11.17199	-0.77780	107	1219	
1221	H	-8.82284	-12.03556	-1.81398	107	1219	
1222	O	-11.77648	-6.93915	-5.88525	106	1223	1224
1223	H	-10.82430	-6.84155	-6.17489	107	1222	
1224	H	-12.30832	-6.16166	-6.22099	107	1222	
1225	O	-11.07908	-3.01363	9.47064	106	1226	1227
1226	H	-10.62891	-3.40408	8.66755	107	1225	
1227	H	-11.32335	-3.74692	10.10522	107	1225	
1228	O	-10.72901	3.83861	9.64921	106	1229	1230
1229	H	-10.32195	4.46911	10.31014	107	1228	
1230	H	-10.71195	4.25292	8.73920	107	1228	
1231	O	9.51046	-8.58763	7.84834	106	1232	1233
1232	H	9.29059	-8.12872	6.98745	107	1231	
1233	H	8.92309	-8.23169	8.57524	107	1231	
1234	O	-5.56586	-8.02371	-11.32871	106	1235	1236
1235	H	-5.94622	-7.24540	-10.82909	107	1234	
1236	H	-6.29025	-8.46694	-11.85680	107	1234	
1237	O	-1.49122	12.22954	-8.45899	106	1238	1239
1238	H	-0.63133	12.73807	-8.50438	107	1237	
1239	H	-2.24439	12.86342	-8.28294	107	1237	
1240	O	10.02259	4.60489	-10.18815	106	1241	1242
1241	H	9.39810	3.93313	-10.58668	107	1240	
1242	H	10.11728	5.38209	-10.81029	107	1240	
1243	O	11.44507	-8.76360	-4.11225	106	1244	1245
1244	H	12.16687	-8.18172	-4.48706	107	1243	
1245	H	11.85173	-9.59038	-3.72349	107	1243	
1246	O	-3.54573	-10.05524	-10.62839	106	1247	1248
1247	H	-3.85641	-10.91172	-10.21611	107	1246	
1248	H	-4.31177	-9.41478	-10.68354	107	1246	
1249	O	-8.40106	12.24561	2.68437	106	1250	1251
1250	H	-7.58891	12.65233	2.26596	107	1249	
1251	H	-8.20121	12.00395	3.63396	107	1249	
1252	O	-8.19667	11.49980	5.25458	106	1253	1254
1253	H	-8.91138	10.86037	5.53807	107	1252	
1254	H	-7.75086	11.88166	6.06421	107	1252	
1255	O	-12.13850	1.69624	8.81057	106	1256	1257
1256	H	-11.36457	2.29379	9.02038	107	1255	
1257	H	-12.16187	0.93940	9.46380	107	1255	
1258	O	9.49696	10.11773	5.78955	106	1259	1260
1259	H	9.10693	10.41436	6.66130	107	1258	
1260	H	10.09661	10.83368	5.43191	107	1258	

```
1261   O     7.74928    -7.98832    10.15449     106     1262  1263
1262   H     8.52172    -8.32324    10.69415     107     1261
1263   H     7.16278    -7.41842    10.73008     107     1261
1264   O    -2.04416    11.03660    10.07868     106     1265  1266
1265   H    -1.06458    10.88821     9.94286     107     1264
1266   H    -2.20101    11.98022    10.37032     107     1264
1267   O    10.23814    -6.40185    -9.00846     106     1268  1269
1268   H    10.66265    -6.05800    -9.84609     107     1267
1269   H    10.77417    -7.16775    -8.65332     107     1267
1270   O   -10.11135   -11.19948     0.89284     106     1271  1272
1271   H   -11.08337   -11.37829     1.04539     107     1270
1272   H    -9.56681   -11.77598     1.50208     107     1270
1273   O    11.75121     7.09141    -6.52555     106     1274  1275
1274   H    11.46038     6.96024    -5.57778     107     1273
1275   H    12.48280     6.44495    -6.74215     107     1273
1276   O   -12.17671     8.06995     4.45953     106     1277  1278
1277   H   -12.34353     8.77753     3.77282     107     1276
1278   H   -11.22900     7.75776     4.39295     107     1276
1279   O   -10.07610     6.29888    -9.54583     106     1280  1281
1280   H   -10.13028     5.70929   -10.35174     107     1279
1281   H    -9.29556     6.91733    -9.63720     107     1279
1282   O    -9.79448     9.53980     6.68631     106     1283  1284
1283   H   -10.53397    10.15813     6.95257     107     1282
1284   H   -10.16913     8.78401     6.14922     107     1282
1285   O   -10.55843     9.52768    -5.59944     106     1286  1287
1286   H   -10.06077     8.73975    -5.23673     107     1285
1287   H   -10.58032     9.47719    -6.59796     107     1285
1288   O    -8.66665    -6.83552    10.59809     106     1289  1290
1289   H    -8.77586    -7.16716     9.66099     107     1288
1290   H    -7.69502    -6.70137    10.79303     107     1288
1291   O    -4.49014   -11.79927    -8.51612     106     1292  1293
1292   H    -4.66415   -12.77094    -8.35601     107     1291
1293   H    -5.30605   -11.27131    -8.28032     107     1291
1294   O    11.11938   -10.50217    -0.51797     106     1295  1296
1295   H    10.13574   -10.47895    -0.69678     107     1294
1296   H    11.61413   -10.56957    -1.38441     107     1294
1297   O     9.64337     8.04959     8.83276     106     1298  1299
1298   H     8.64547     8.02775     8.89432     107     1297
1299   H     9.93390     7.62194     7.97674     107     1297
1300   O    -9.71980    -3.38858   -11.42355     106     1301  1302
1301   H    -8.94923    -2.87221   -11.04988     107     1300
1302   H   -10.56110    -3.11672   -10.95623     107     1300
1303   O     2.26277    11.49696    -9.98632     106     1304  1305
1304   H     2.01848    11.69272    -9.03655     107     1303
1305   H     1.48027    11.69010   -10.57831     107     1303
1306   O   -11.83379    -6.61537     7.42299     106     1307  1308
1307   H   -12.40341    -6.53645     6.60483     107     1306
1308   H   -11.43749    -7.53251     7.46597     107     1306
1309   O    -9.58736    -5.92059   -10.55985     106     1310  1311
1310   H    -9.31122    -5.03925   -10.94330     107     1309
1311   H   -10.47373    -6.18608   -10.93925     107     1309
1312   O     7.99382     6.91071    11.40762     106     1313  1314
1313   H     7.37475     6.30508    11.90764     107     1312
1314   H     7.72591     6.93977    10.44459     107     1312
1315   O    -6.73313     6.49521   -12.38648     106     1316  1317
1316   H    -5.97980     6.85551   -11.83625     107     1315
1317   H    -7.59969     6.66564   -11.91736     107     1315
1318   O     7.16153     9.86643    -9.61781     106     1319  1320
1319   H     6.43361    10.14085    -8.98941     107     1318
1320   H     8.01370    10.32179    -9.35990     107     1318
1321   O   -12.13630     9.63647     1.97639     106     1322  1323
1322   H   -12.16310     9.54449     0.98096     107     1321
1323   H   -11.18534     9.63457     2.28578     107     1321
1324   O    11.26376     3.99581    10.07015     106     1325  1326
1325   H    10.96685     3.07054     9.83399     107     1324
1326   H    12.24839     4.07925     9.91659     107     1324
1327   O    -5.95785    10.54811    10.01296     106     1328  1329
1328   H    -6.33360    10.44827    10.93431     107     1327
1329   H    -5.56042     9.67876     9.71910     107     1327
1330   O   -10.64475   -10.09215    -5.64194     106     1331  1332
1331   H   -11.18975   -10.68580    -5.04983     107     1330
1332   H    -9.67896   -10.17084    -5.39474     107     1330
1333   O    -3.90788     9.74372    11.76936     106     1334  1335
1334   H    -3.17272    10.21940    11.28630     107     1333
1335   H    -4.26466     9.00879    11.19261     107     1333
1336   O    -9.87684    -9.23056    -8.10833     106     1337  1338
1337   H   -10.21176    -9.61944    -7.25003     107     1336
1338   H    -9.40539    -8.36850    -7.92209     107     1336
1339   O    -9.24096     8.61401     9.35836     106     1340  1341
1340   H    -9.35453     9.47806     9.84886     107     1339
1341   H    -9.49424     8.73954     8.39911     107     1339
1342   O     6.14108    11.19941     9.15337     106     1343  1344
1343   H     5.63041    10.62352     9.79184     107     1342
1344   H     6.21925    12.12355     9.52745     107     1342
1345   O    -8.40677    11.62002    -6.55632     106     1346  1347
1346   H    -8.98463    10.98476    -6.04388     107     1345
1347   H    -8.06583    12.33083    -5.94105     107     1345
1348   O     4.47843    10.23413    11.13621     106     1349  1350
1349   H     4.71290    10.34456    12.10207     107     1348
1350   H     3.93678     9.40188    11.01781     107     1348
1351   O    -8.36015     8.43412   -10.36512     106     1352  1353
1352   H    -8.72753     9.15443   -10.95356     107     1351
1353   H    -7.36236     8.42603   -10.43157     107     1351
1354   O   -10.22460     0.07824    12.26681     106     1355  1356
1355   H    -9.73178    -0.75890    12.02935     107     1354
1356   H    -9.61995     0.68641    12.78119     107     1354
1357   O     9.69171   -11.92533     4.72931     106     1358  1359
1358   H     9.51531   -11.07316     5.22202     107     1357
1359   H     8.88272   -12.17661     4.19786     107     1357
1360   O    -6.74042    12.14995     7.88712     106     1361  1362
1361   H    -6.22715    11.93306     8.71753     107     1360
1362   H    -7.65636    12.46607     8.13448     107     1360
1363   O     2.95072    12.22295    10.01719     106     1364  1365
1364   H     3.37604    11.40194    10.39812     107     1363
1365   H     3.07714    12.23414     9.02525     107     1363
1366   O    10.10221    -2.72863    12.20302     106     1367  1368
1367   H    10.66398    -3.47894    12.55162     107     1366
1368   H     9.28335    -2.63445    12.76928     107     1366
1369   O    12.21609     9.95107    -3.53856     106     1370  1371
1370   H    12.49938     9.77189    -4.48074     107     1369
1371   H    11.26716     9.66072    -3.41493     107     1369
1372   O   -12.27392    -0.51457    10.54945     106     1373  1374
1373   H   -11.57833    -0.24816    11.21671     107     1372
1374   H   -11.97292    -1.33537    10.06391     107     1372
1375   O   -11.18142   -10.53498     4.82955     106     1376  1377
1376   H   -12.02680   -10.43166     5.35369     107     1375
1377   H   -10.97494   -11.50712     4.71836     107     1375
1378   O    -0.92073    11.60473   -11.20330     106     1379  1380
1379   H    -1.42488    11.80065   -10.36215     107     1378
1380   H    -1.45777    11.90550   -11.99146     107     1378
1381   O     9.26416    12.08813    -5.69531     106     1382  1383
1382   H     9.19310    11.66183    -4.79350     107     1381
1383   H     9.40616    11.38095    -6.38798     107     1381
1384   O     5.71646    -8.98409   -12.30439     106     1385  1386
1385   H     5.19275    -9.80082   -12.54677     107     1384
1386   H     6.20916    -9.14573   -11.44929     107     1384
1387   O     6.70516   -11.04516     9.91199     106     1388  1389
1388   H     7.30865   -11.53607    10.54037     107     1387
1389   H     6.64541   -10.08593    10.18836     107     1387
1390   O     1.84126   -10.85268   -12.00793     106     1391  1392
1391   H     2.79927   -10.94838   -12.27830     107     1390
1392   H     1.27450   -10.73853   -12.82390     107     1390
1393   O   -10.96934    -9.11362     7.95439     106     1394  1395
1394   H   -11.75796    -9.59551     7.57237     107     1393
1395   H   -10.25921    -9.77521     8.19539     107     1393
1396   O    12.38183    -2.69936   -10.52654     106     1397  1398
1397   H    11.58162    -3.29756   -10.56987     107     1396
1398   H    12.08698    -1.76080   -10.34706     107     1396
1399   O   -10.85340    -4.96914    11.37850     106     1400  1401
1400   H   -10.47022    -4.09611    11.68026     107     1399
1401   H   -10.11528    -5.63280    11.25679     107     1399
1402   O     8.85468    11.08484     8.39402     106     1403  1404
```

```
1403   H     7.93495    11.38937     8.64188     107     1402
1404   H     9.24766    10.56172     9.15032     107     1402
1405   O   -10.31396     4.80317   -11.86396     106     1406   1407
1406   H   -11.04976     4.15471   -11.66862     107     1405
1407   H   -10.62524     5.46483   -12.54614     107     1405
1408   O     9.31106    10.82887    -8.27172     106     1409   1410
1409   H     9.43123    10.01186    -7.70770     107     1408
1410   H    10.07452    10.90642    -8.91294     107     1408
1411   O    -9.20211   -11.34772     7.82032     106     1412   1413
1412   H    -9.89175   -12.05774     7.67774     107     1411
1413   H    -8.97404   -10.92382     6.94376     107     1411
1414   O    -2.72323   -11.48471    11.72210     106     1415   1416
1415   H    -2.52187   -10.90050    12.50837     107     1414
1416   H    -3.62566   -11.25417    11.35804     107     1414
1417   O    10.95322    -5.10210   -11.48530     106     1418   1419
1418   H    10.05757    -5.45540   -11.75562     107     1417
1419   H    11.64422    -5.41012   -12.13929     107     1417
1420   O     5.01144    11.46681   -11.16792     106     1421   1422
1421   H     5.85195    11.58395   -10.63889     107     1420
1422   H     4.22090    11.56093   -10.56275     107     1420
1423   O   -10.52744     9.97426    -8.38833     106     1424   1425
1424   H   -10.90448     9.61617    -9.24253     107     1423
1425   H    -9.52943     9.91637    -8.41442     107     1423
1426   O    11.55059    -6.11930    10.60296     106     1427   1428
1427   H    11.21604    -5.50464     9.88859     107     1426
1428   H    12.53662    -5.99530    10.71442     107     1426
1429   O    10.46143   -10.80443    -7.50018     106     1430   1431
1430   H    10.32133   -11.41598    -6.72143     107     1429
1431   H    11.37873   -10.94438    -7.87304     107     1429
1432   O    11.55230   -10.28675     6.81144     106     1433   1434
1433   H    11.47463   -11.11689     7.36364     107     1432
1434   H    10.81892    -9.65298     7.05750     107     1432
1435   O   -11.17483     6.51099    10.89797     106     1436   1437
1436   H   -11.96570     7.10828    11.03147     107     1435
1437   H   -10.59177     6.88610    10.17726     107     1435
1438   O    10.42602     5.97824    12.01924     106     1439   1440
1439   H     9.44800     6.14845    11.89854     107     1438
1440   H    10.77396     5.46362    11.23555     107     1438
1441   O     4.42285   -11.14367    12.01999     106     1442   1443
1442   H     4.08662   -11.57568    11.18310     107     1441
1443   H     4.73762   -11.84858    12.65565     107     1441
1444   O   -11.85406     2.28235   -11.97360     106     1445   1446
1445   H   -11.35694     1.44542   -12.20266     107     1444
1446   H   -12.57127     2.44033   -12.65236     107     1444
1447   O    -7.71269    -9.02463    12.30307     106     1448   1449
1448   H    -8.28838    -9.59287    12.89108     107     1447
1449   H    -8.28367    -8.36379    11.81588     107     1447
1450   O    12.04006   -12.22801     1.42773     106     1451   1452
1451   H    11.61342   -11.56653     0.81089     107     1450
1452   H    11.49872   -13.06875     1.44088     107     1450
1453   O   -12.41478   -11.67509    -2.77853     106     1454   1455
1454   H   -11.51674   -11.80805    -2.35916     107     1453
1455   H   -12.68708   -12.51101    -3.25516     107     1453
1456   O    -6.53262   -11.42944    11.32479     106     1457   1458
1457   H    -5.98809   -11.18265    10.52317     107     1456
1458   H    -7.00177   -10.61735    11.67188     107     1456
1459   O    -9.41339   -10.13247   -10.49293     106     1460   1461
1460   H    -8.93985   -10.99613   -10.31997     107     1459
1461   H    -9.58599    -9.66732    -9.62465     107     1459
1462   O     8.20987     9.55873   -11.99968     106     1463   1464
1463   H     7.76440     9.64870   -11.10889     107     1462
1464   H     8.03122     8.64761   -12.37114     107     1462
1465   O    12.18055    -8.30685    -9.05351     106     1466   1467
1466   H    12.69198    -8.34390    -9.91208     107     1465
1467   H    12.72107    -8.72810    -8.32518     107     1465
1468   O    12.01859    11.84879     4.27101     106     1469   1470
1469   H    12.16079    11.88975     3.28199     107     1468
1470   H    11.17770    12.33577     4.50725     107     1468
1471   O    -5.87570    11.17396   -11.95771     106     1472   1473
1472   H    -5.13788    10.68253   -12.42052     107     1471
1473   H    -6.15545    11.95629   -12.51427     107     1471
1474   O     9.81918    -8.06795    11.99771     106     1475   1476
1475   H    10.46138    -7.38085    11.65781     107     1474
1476   H    10.19116    -8.49224    12.82334     107     1474
1477   O    -8.16373    12.30896    -9.55538     106     1478   1479
1478   H    -7.97222    12.14944    -8.58693     107     1477
1479   H    -7.59038    11.70766   -10.11193     107     1477
1480   O    10.24128    -9.79736   -10.54409     106     1481   1482
1481   H    10.35986    -9.23531    -9.72550     107     1480
1482   H    10.85247   -10.58749   -10.49727     107     1480
1483   O    10.05734    10.04070    10.61200     106     1484   1485
1484   H     9.47304    10.10189    11.42127     107     1483
1485   H    10.08909     9.09285    10.29476     107     1483
1486   O     8.03498   -12.17647   -10.06595     106     1487   1488
1487   H     8.36892   -12.55319    -9.20186     107     1486
1488   H     8.59833   -11.39276   -10.32770     107     1486
1489   O   -11.54744    11.92360     6.89976     106     1490   1491
1490   H   -12.24511    11.83002     7.61008     107     1489
1491   H   -11.93241    11.65432     6.01695     107     1489
1492   O   -11.33277    -8.38474   -11.42981     106     1493   1494
1493   H   -11.69925    -8.68223   -12.31143     107     1492
1494   H   -10.47813    -8.86944   -11.24348     107     1492
1495   O   -12.04131    -8.90561    10.63869     106     1496   1497
1496   H   -13.01809    -9.08512    10.52146     107     1495
1497   H   -11.63751    -8.66905     9.75493     107     1495
1498   O    -8.86134    12.12110    10.66857     106     1499   1500
1499   H    -8.00673    12.64042    10.67197     107     1498
1500   H    -9.62556    12.73567    10.86441     107     1498
1501   O    -9.55612    10.08906   -12.27530     106     1502   1503
1502   H    -9.08775    10.86923   -12.69007     107     1501
1503   H   -10.22196     9.71757   -12.92238     107     1501
1504   O    10.50282   -10.84991    11.11935     106     1505   1506
1505   H    10.21107   -10.08874    11.69862     107     1504
1506   H     9.81256   -11.57301    11.14652     107     1504
1507   O   -11.81237   -12.31379    -7.84781     106     1508   1509
1508   H   -11.02860   -11.89452    -7.38960     107     1507
1509   H   -11.59405   -13.26127    -8.08165     107     1507
1510   O    11.29618   -12.28001     8.66409     106     1511   1512
1511   H    11.12435   -11.84384     9.54743     107     1510
1512   H    10.54472   -12.90365     8.44856     107     1510
1513   O    11.06992    10.94972   -10.49269     106     1514   1515
1514   H    10.83368    10.17502   -11.07928     107     1513
1515   H    11.63421    11.59644   -11.00591     107     1513
1516   O    11.69557     8.51168    12.23010     106     1517   1518
1517   H    11.51662     9.22336    11.55073     107     1516
1518   H    11.06537     7.74847    12.08717     107     1516
1519   O     8.11117   -12.27495    12.00743     106     1520   1521
1520   H     8.02753   -12.15676    12.99693     107     1519
1521   H     8.04450   -13.24674    11.78105     107     1519
1522   O   -11.82398    10.68760    10.43576     106     1523   1524
1523   H   -11.46062    11.57639    10.71518     107     1522
1524   H   -12.77206    10.79442    10.13612     107     1522
1525   O   -11.86091   -11.68051   -10.44224     106     1526   1527
1526   H   -11.21799   -10.94188   -10.23942     107     1525
1527   H   -12.04470   -12.20077    -9.60820     107     1525
1528   O   -11.19536   -11.72021    11.66990     106     1529   1530
1529   H   -11.17156   -11.59957    12.66234     107     1528
1530   H   -11.82893   -11.05853    11.26884     107     1528
```

Arquivo B.0.1: Descrição do arquivo de coordenadas ".xyz", do sistema, 1 molécula de emodina mais 500 moléculas de água, totalizando um sistema com 1530 átomos.

```
# Arquivo de controle ".key"
VERBOSE

# Force Field Selection
PARAMETERS          none
CHARGETERM
VDWTERM
ANGLETERM
BONDTERM
TORSIONTERM
# Van Der Waals Functional Form
EPSILONRULE         GEOMETRIC
RADIUSRULE          GEOMETRIC
RADIUSSIZE          DIAMETER
RADIUSTYPE          SIGMA
VDWTYPE             LENNARD-JONES
VDW-14-SCALE        2.0                 #OPLSAA
CHG-14-SCALE        2.0                 #OPLSAA
TORSIONUNIT         0.5                 #OPLSAA
# Electrostatics Functional Form
DIELECTRIC          1.0
# Dynamics
INTEGRATE           VERLET
TAU-TEMPERATURE     0.1
THERMOSTAT          BERENDSEN
# Random Number
RANDOMSEED          12345789
# Constriant And Restraint
#RATTLE
# Molecula 1 - natom = 52
ATOM          1      CA     "C1 mol1"     6   12.000     2  11  18
ATOM          2      CA     "C2 mol1"     6   12.000     1   3  29
ATOM          3      CA     "C3 mol1"     6   12.000     2   4  20
ATOM          4      CA     "C4 mol1"     6   12.000     3  12  30
ATOM          5      CA     "C5 mol1"     6   12.000     6  13  28
ATOM          6      CA     "C6 mol1"     6   12.000     5   7  23
ATOM          7      CA     "C7 mol1"     6   12.000     6   8  27
ATOM          8      CA     "C8 mol1"     6   12.000     7  14  15
ATOM          9      CA     "C9 mol1"     6   12.000    11  14  17
ATOM         10      CA     "C10 mol1"    6   12.000    12  13  22
ATOM         11      CA     "C11 mol1"    6   12.000     1   9  12
ATOM         12      CA     "C12 mol1"    6   12.000     4  10  11
ATOM         13      CA     "C13 mol1"    6   12.000     5  10  14
ATOM         14      CA     "C14 mol1"    6   12.000     8   9  13
ATOM         15      OH     "O15 mol1"    8   15.999     8  16
ATOM         16      HO     "H16 mol1"    1    1.008    15
ATOM         17      O      "O17 mol1"    8   15.999     9
ATOM         18      OH     "O18 mol1"    8   15.999     1  19
ATOM         19      HO     "H19 mol1"    1    1.008    18
ATOM         20      OH     "O20 mol1"    8   15.999     3  21
ATOM         21      HO     "H21 mol1"    1    1.008    20
ATOM         22      O      "O22 mol1"    8   15.999    10
ATOM         23      CT     "C23 mol1"    6   12.000     6  26  24  25
ATOM         24      HC     "H24 mol1"    1    1.008    23
ATOM         25      HC     "H25 mol1"    1    1.008    23
ATOM         26      HC     "H26 mol1"    1    1.008    23
ATOM         27      HA     "H27 mol1"    1    1.008     7
ATOM         28      HA     "H28 mol1"    1    1.008     5
ATOM         29      HA     "H29 mol1"    1    1.008     2
ATOM         30      HA     "H30 mol1"    1    1.008     4
CHARGE        1              0.150
CHARGE        2             -0.115
CHARGE        3              0.150
CHARGE        4             -0.115
CHARGE        5             -0.115
CHARGE        6              0.000
CHARGE        7             -0.115
CHARGE        8              0.150
CHARGE        9              0.500
CHARGE       10              0.500
CHARGE       11              0.000
CHARGE       12              0.000
CHARGE       13              0.000
CHARGE       14              0.000
CHARGE       15             -0.585
CHARGE       16              0.435
CHARGE       17             -0.500
CHARGE       18             -0.585
CHARGE       19              0.435
CHARGE       20             -0.585
CHARGE       21              0.435
CHARGE       22             -0.500
CHARGE       23             -0.180
CHARGE       24              0.060
CHARGE       25              0.060
CHARGE       26              0.060
CHARGE       27              0.115
CHARGE       28              0.115
CHARGE       29              0.115
CHARGE       30              0.115
   ##########################################
   ##                                      ##
   ##   Van der Waals Parameters           ##
   ##                                      ##
   ##########################################
VDW          1       3.550       0.070
VDW          2       3.550       0.070
VDW          3       3.550       0.070
VDW          4       3.550       0.070
VDW          5       3.550       0.070
VDW          6       3.550       0.070
VDW          7       3.550       0.070
VDW          8       3.550       0.070
VDW          9       3.550       0.070
VDW         10       3.500       0.070
VDW         11       3.550       0.070
VDW         12       3.550       0.070
VDW         13       3.550       0.070
VDW         14       3.550       0.070
VDW         15       3.070       0.170
VDW         16       0.000       0.000
VDW         17       2.960       0.210
```

```
VDW         18      3.070      0.170
VDW         19      0.000      0.000
VDW         20      3.070      0.170
VDW         21      0.000      0.000
VDW         22      2.960      0.210
VDW         23      3.500      0.066
VDW         24      2.500      0.030
VDW         25      2.500      0.030
VDW         26      2.500      0.030
VDW         27      2.420      0.030
VDW         28      2.420      0.030
VDW         29      2.420      0.030
VDW         30      2.420      0.030
   ########################################
   ##                                    ##
   ##   Bond Stretching Parameters       ##
   ##                                    ##
   ########################################
BOND         1       2          469.00       1.3992
BOND         1      11          469.00       1.4243
BOND         1      18          450.00       1.3477
BOND         2       3          469.00       1.3944
BOND         2      29          367.00       1.0898
BOND         3       4          469.00       1.4032
BOND         3      20          450.00       1.3501
BOND         4      12          469.00       1.3883
BOND         4      30          367.00       1.0874
BOND         5       6          469.00       1.4044
BOND         5      13          469.00       1.3923
BOND         5      28          367.00       1.0869
BOND         6       7          469.00       1.3939
BOND         6      23          317.00       1.5096
BOND         7       8          469.00       1.4041
BOND         7      27          367.00       1.0893
BOND         8      14          469.00       1.4189
BOND         8      15          450.00       1.3452
BOND         9      11          469.00       1.4687
BOND         9      14          469.00       1.4757
BOND         9      17          450.00       1.2519
BOND        10      12          469.00       1.4951
BOND        10      13          469.00       1.4841
BOND        10      22          450.00       1.2312
BOND        11      12          469.00       1.4210
BOND        13      14          469.00       1.4130
BOND        15      16          553.00       0.9989
BOND        18      19          553.00       0.9911
BOND        20      21          553.00       0.9912
BOND        23      24          340.00       1.0961
BOND        23      25          340.00       1.0938
BOND        23      26          340.00       1.0975
    ########################################
    ##                                    ##
    ##      Angle bending Parameters      ##
    ##                                    ##
    ########################################
ANGLE        1     2      3                          63.00  120.8797
ANGLE        1     2     29                          35.00  119.6481
ANGLE        1    11      9                          63.00  122.5895
ANGLE        1    11     12                          63.00  117.2398
ANGLE        1    18     19                          35.00  109.5471
ANGLE        2     1     11                          63.00  120.4108
ANGLE        2     1     18                          70.00  119.9032
ANGLE        2     3      4                          63.00  119.7912
ANGLE        2     3     20                          70.00  117.3741
ANGLE        3     2     29                          35.00  119.4722
ANGLE        3     4     12                          63.00  119.6918
ANGLE        3     4     30                          35.00  120.6671
ANGLE        3    20     21                          35.00  110.5330
ANGLE        4     3     20                          70.00  122.8347
ANGLE        4    12     10                          63.00  116.8312
ANGLE        4    12     11                          63.00  121.9865
ANGLE        5     6      7                          63.00  118.6782
ANGLE        5     6     23                          63.00  120.8735
ANGLE        5    13     10                          63.00  118.8843
ANGLE        5    13     14                          63.00  121.1536
ANGLE        6     5     13                          63.00  120.7287
ANGLE        6     5     28                          35.00  120.4531
ANGLE        6     7      8                          63.00  121.4214
ANGLE        6     7     27                          35.00  120.8746
ANGLE        6    23     24                          35.00  111.1849
ANGLE        6    23     25                          35.00  111.3613
ANGLE        6    23     26                          35.00  110.8850
ANGLE        7     6     23                          63.00  120.4466
ANGLE        7     8     14                          63.00  120.0205
ANGLE        7     8     15                          70.00  117.5405
ANGLE        8     7     27                          35.00  117.7041
ANGLE        8    14      9                          63.00  120.1431
ANGLE        8    14     13                          63.00  117.9975
ANGLE        8    15     16                          35.00  105.7829
ANGLE        9    11     12                          63.00  120.1707
ANGLE        9    14     13                          63.00  121.8593
ANGLE       10    12     11                          63.00  121.1823
ANGLE       10    13     14                          63.00  119.9620
ANGLE       11     1     18                          70.00  119.6860
ANGLE       11     9     14                          63.00  118.7867
ANGLE       11     9     17                          70.00  121.8935
ANGLE       12     4     30                          35.00  119.6411
ANGLE       12    10     13                          63.00  118.0387
ANGLE       12    10     22                          70.00  120.7399
ANGLE       13     5     28                          35.00  118.8182
ANGLE       13    10     22                          70.00  121.2214
ANGLE       14     8     15                          70.00  122.4390
ANGLE       14     9     17                          70.00  119.3197
ANGLE       24    23     25                          33.00  108.3364
ANGLE       24    23     26                          33.00  107.0251
ANGLE       25    23     26                          33.00  107.8753
     ########################################
     ##                                    ##
     ##   Improper Torsional Parameters    ##
     ##                                    ##
     ########################################
IMPTORS      1    12     11      9                   2.200 180.0 2
```

```
IMPTORS       2   11     1    18                        2.200 180.0 2
IMPTORS       3    1     2    29                        2.200 180.0 2
IMPTORS       4   20     3     2                        2.200 180.0 2
IMPTORS       5   10    13    14                        2.200 180.0 2
IMPTORS       6   13     5    28                        2.200 180.0 2
IMPTORS       7    5     6    23                        2.200 180.0 2
IMPTORS       8    6     7    27                        2.200 180.0 2
IMPTORS       9   13    14     8                        2.200 180.0 2
IMPTORS      10    4    12    11                        2.200 180.0 2
IMPTORS      11   14     9    17                        2.200 180.0 2
IMPTORS      12    3     4    30                        2.200 180.0 2
IMPTORS      13   12    10    22                        2.200 180.0 2
IMPTORS      14    7     8    15                        2.200 180.0 2
    ########################################
    ##                                    ##
    ##   Torsional Parameters             ##
    ##                                    ##
    ########################################
TORSION       1     2     3     4                       7.250 180.0 2
TORSION       1     2     3    20                       7.250 180.0 2
TORSION       1    11    12     4                       7.250 180.0 2
TORSION       1    11    12    10                       7.250 180.0 2
TORSION       2     1    11     9                       7.250 180.0 2
TORSION       2     1    11    12                       7.250 180.0 2
TORSION       2     1    18    19                       1.682 180.0 2
TORSION       2     3     4    12                       7.250 180.0 2
TORSION       2     3     4    30                       7.250 180.0 2
TORSION       2     3    20    21                       1.682 180.0 2
TORSION       3     4    12    10                       7.250 180.0 2
TORSION       3     4    12    11                       7.250 180.0 2
TORSION       4     3    20    21                       1.682 180.0 2
TORSION       5     6     7     8                       7.250 180.0 2
TORSION       5     6     7    27                       7.250 180.0 2
TORSION       5     6    23    24                       7.250 180.0 2
TORSION       5     6    23    25                       7.250 180.0 2
TORSION       5     6    23    26                       7.250 180.0 2
TORSION       5    13    14     8                       7.250 180.0 2
TORSION       5    13    14     9                       7.250 180.0 2
TORSION       6     5    13    10                       7.250 180.0 2
TORSION       6     5    13    14                       7.250 180.0 2
TORSION       6     7     8    14                       7.250 180.0 2
TORSION       6     7     8    15                       7.250 180.0 2
TORSION       7     6    23    24                       7.250 180.0 2
TORSION       7     6    23    25                       7.250 180.0 2
TORSION       7     6    23    26                       7.250 180.0 2
TORSION       7     8    14     9                       7.250 180.0 2
TORSION       7     8    14    13                       7.250 180.0 2
TORSION       7     8    15    16                       1.682 180.0 2
TORSION       9    11    12     4                       7.250 180.0 2
TORSION       9    11    12    10                       7.250 180.0 2
TORSION      10    13    14     8                       7.250 180.0 2
TORSION      10    13    14     9                       7.250 180.0 2
TORSION      11     1     2     3                       7.250 180.0 2
TORSION      11     1     2    29                       7.250 180.0 2
TORSION      11     1    18    19                       1.682 180.0 2
TORSION      11     9    14     8                       7.250 180.0 2
TORSION      11     9    14    13                       7.250 180.0 2
TORSION      12    10    13     5                       7.250 180.0 2
TORSION      12    10    13    14                       7.250 180.0 2
TORSION      13     5     6     7                       7.250 180.0 2
TORSION      13     5     6    23                       7.250 180.0 2
TORSION      13    10    12     4                       7.250 180.0 2
TORSION      13    10    12    11                       7.250 180.0 2
TORSION      14     8    15    16                       1.682 180.0 2
TORSION      14     9    11     1                       7.250 180.0 2
TORSION      14     9    11    12                       7.250 180.0 2
TORSION      15     8    14     9                       7.250 180.0 2
TORSION      15     8    14    13                       7.250 180.0 2
TORSION      17     9    11     1                       7.250 180.0 2
TORSION      17     9    11    12                       7.250 180.0 2
TORSION      17     9    14     8                       7.250 180.0 2
TORSION      17     9    14    13                       7.250 180.0 2
TORSION      18     1     2     3                       7.250 180.0 2
TORSION      18     1     2    29                       7.250 180.0 2
TORSION      18     1    11     9                       7.250 180.0 2
TORSION      18     1    11    12                       7.250 180.0 2
TORSION      20     3     4    12                       7.250 180.0 2
TORSION      20     3     4    30                       7.250 180.0 2
TORSION      22    10    12     4                       7.250 180.0 2
TORSION      22    10    12    11                       7.250 180.0 2
TORSION      22    10    13     5                       7.250 180.0 2
TORSION      22    10    13    14                       7.250 180.0 2
TORSION      23     6     7     8                       7.250 180.0 2
TORSION      23     6     7    27                       7.250 180.0 2
TORSION      27     7     8    14                       7.250 180.0 2
TORSION      27     7     8    15                       7.250 180.0 2
TORSION      28     5     6     7                       7.250 180.0 2
TORSION      28     5     6    23                       7.250 180.0 2
TORSION      28     5    13    10                       7.250 180.0 2
TORSION      28     5    13    14                       7.250 180.0 2
TORSION      29     2     3     4                       7.250 180.0 2
TORSION      29     2     3    20                       7.250 180.0 2
TORSION      30     4    12    10                       7.250 180.0 2
TORSION      30     4    12    11                       7.250 180.0 2
# Molecula 2 - natom = 3
ATOM       106      O    "O106 mol2"     8   15.999  107  107
ATOM       107      H    "H107 mol2"     1    1.008  106
ATOM       107      H    "H107 mol2"     1    1.008  106
CHARGE     106     -0.820000
CHARGE     107      0.410000
CHARGE     107      0.410000
VDW        106      3.165555296      0.155406042
VDW        107      0.000       0.000
VDW        107      0.000       0.000
BOND       106     107     527.2    1.0000
BOND       106     107     527.2    1.0000
ANGLE      107     106     107     57.95    109.4665
# Crystal Lattice And Periodic Boundary
A-AXIS             24.984700
B-AXIS             24.984700
C-AXIS             24.984700
```

Arquivo B.0.2: Descrição do arquivo de controle ".key", do sistema emodina/água. Os parâmetros do campo de força, listados nesse arquivo foram obtidos do arquivo "oplsaa.prm", postado na homepage do programa Tinker, http://dasher.wustl.edu/tinker/distribution/params/oplsaa.prm.