



Carolina Penhavel de Souza

Desenvolvimento de modelos para flavonoides e cumarinas utilizando o campo de
força CGenFF

São José do Rio Preto

2014

Carolina Penhavel de Souza

Desenvolvimento de modelos para flavonoides e cumarinas utilizando o campo de
força CGenFF

Dissertação apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do título de
Mestre em Biofísica Molecular, junto ao
Programa de Pós-Graduação em Biofísica
Molecular, do Instituto de Biociências,
Letras e Ciências Exatas da Universidade
Estadual Paulista “Júlio de Mesquita
Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Suman de
Araujo

São José do Rio Preto

2014

Souza, Carolina Penhavel de.

Desenvolvimento de modelos para flavonoides e cumarinas
utilizando o campo de força CGenFF / Carolina Penhavel de Souza. --
São José do Rio Preto, 2014

119 f. : il., gráfs., tabs.

Orientador: Alexandre Suman de Araujo

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio
de Mesquita Filho”, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas

1. Biologia molecular. 2. Biofísica. 3. Dinâmica molecular.
4. Moléculas - Modelos. 5. Flavonoides. 6. Cumarinas. I. Araujo,
Alexandre Suman de. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de
Mesquita Filho". Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas.
III. Título.

CDU – 539.2

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca do IBILCE
UNESP - Câmpus de São José do Rio Preto

Carolina Penhavel de Souza

Desenvolvimento de modelos para flavonoides e cumarinas utilizando o campo de força CGenFF

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biofísica Molecular, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biofísica Molecular, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Suman de Araujo

Comissão Examinadora

Prof. Dr. Alexandre Suman de Araujo
UNESP – São José do Rio Preto
Orientador

Prof. Dr. Ernesto Raul Caffarena
FIOCRUZ – Rio de Janeiro

Prof. Dr. Marinônio Lopes Cornélio
UNESP - São José do Rio Preto

São José do Rio Preto
21 de outubro de 2014

Aos meus pais, Milton e Dolores.

Agradecimentos

Ao prof. Dr. Alexandre Suman de Araujo pela orientação, amizade, paciência e ensinamentos, de excepcional importância para a realização deste trabalho.

Aos professores Jorge Chahine e Sidney Jurado de Carvalho, pelas significativas contribuições no exame de qualificação.

Aos meus pais Milton e Dolores, por todo amor, incentivo e apoio absolutos, não só durante esta etapa, mas em todos os momentos e acontecimentos de minha vida.

Ao meu irmão Eduardo pelo carinho, apoio incondicional e exemplo.

Aos amigos do departamento de Física, em especial, Lais Ozelin, Rafaela Magalhães, Paulo Ricardo Mouro, e Marcelo Araujo, pela amizade, companheirismo e pelos fundamentais momentos de descontração.

À Amanda Coto e Gabriel Pavanin, pela amizade e agradáveis momentos musicais.

Aos amigos da banda “Luigi e os Pirandellos”.

Ao Alvaro Hattner, pela apreciável amizade, incentivo e aconselhamento.

Esta pesquisa tornou-se possível graças aos recursos computacionais disponibilizados pelo Núcleo de Computação Científica (NCC/GridUNESP) da Universidade Estadual Paulista (UNESP).

À CAPES pelo apoio financeiro.

Resumo

A utilização de simulações computacionais como ferramenta no estudo dos mais variados sistemas biomoleculares nos traz a possibilidade de observar o comportamento, organização e interação de seus componentes em nível atômico/molecular. Dentre as inúmeras técnicas de simulação computacional existentes, a mais difundida atualmente é a Dinâmica Molecular (DM). A DM tem um papel importante no que diz respeito à determinação da estrutura, dinâmica e função de um sistema molecular graças à simplicidade de sua função potencial. Essa função potencial e sua respectiva parametrização são chamadas, genericamente, de campo de forças. Dentre os diversos campos de forças propostos na literatura, o CHARMM é um dos mais utilizados e aperfeiçoados atualmente. Com o objetivo de modelar moléculas de interesse farmacológico que interagem com biomoléculas, foi desenvolvida recentemente uma extensão desse campo de forças, o CHARMM General Force Field (CGenFF). A construção da versão inicial do CGenFF foi baseada em moléculas componentes do CHARMM como, por exemplo, o fenol, parametrizado como um precursor para a tirosina. Todos os parâmetros já disponíveis no CHARMM são convertidos e combinados de modo a produzir novos tipos de átomos. Mesmo assim, o CGenFF deve ser usado apenas para moléculas farmacológicas; as macromoléculas biológicas devem ser representadas pelo campo de forças CHARMM original. O estudo de moléculas de interesse farmacológico provenientes de fontes naturais (vegetais, animais ou minerais) sempre resultou no desenvolvimento de fármacos de grande eficiência para o combate de inúmeras doenças. Aproximadamente 50% dos fármacos introduzidos no mercado, durante os últimos 20 anos, são derivados de pequenas moléculas biogênicas. Dentre os compostos naturais com grande potencial para uso como fármacos podemos destacar os flavonoides: eles são compostos polifenólicos naturalmente presentes em vegetais, frutas, sementes, nozes e bebidas como chás e vinho tinto. Essas moléculas são derivadas da benzo- γ -pirona e apresentam ampla faixa de atividades biológicas incluindo antialérgicas, anti-inflamatórias, antioxidantes, antivirais e anticarcinogênicas. Com o CHARMM General Force Field (CGenFF), pretendemos modelar compostos heterocíclicos, uma classe que age como uma base para a maioria dos compostos farmacológicos. Em nosso trabalho, modelaremos primeiramente o chromone, que servirá de base para as cumarinas, utilizadas como aromatizantes, a quercetina e, conseqüentemente, para uma diversidade de flavonoides glicosilados. Dada a disponibilidade de um vasto número de heterociclos e grupos funcionais, os esforços para a extensão dos campos de forças devem envolver a ligação desses grupos para criar a molécula de interesse. Este trabalho propõe, portanto, a compreensão da metodologia empregada no desenvolvimento de parâmetros do CGenFF

e sua aplicação para a modelagem de flavonoides de interesse farmacológico seguidos pela validação do modelo por meio de simulações por Dinâmica Molecular.

Palavras-chave: Campo de força. Flavonoides. Modelagem

Abstract

The use of computational simulations as a tool in the study of biomolecular systems creates the possibility to observe the behavior, organization and interaction of the components at atomic/molecular level. Among several computational simulation techniques, the most used is Molecular Dynamics (MD). MD plays an important role in structure determination, dynamics and function of molecular systems due to the simplicity of its potential function. This and their respective parameterization are generically known as force fields. Among the existing force fields, CHARMM is one of the most used and improved today. In order to model molecules of pharmaceutical interest that interact with biomolecules, an extension of this force field, the CHARMM General Force Field (CGenFF), was developed. The construction of the initial version of the CgenFF was based in molecules which compose CHARMM, such as phenol, parameterized as a precursor for tyrosine. All the parameters already available in the CHARMM are converted and combined to produce new types of atoms. Nevertheless, the CGenFF should be used only for pharmacological molecules; the biological molecules should be represented by the original CHARMM force field. The study of molecules of pharmacological interest from natural sources (vegetable, animal or mineral) always resulted in the development of drugs highly efficient to fight several diseases. Approximately 50% of the drugs introduced on the market, during the last 20 years, are derived from small biogenic molecules. Among the natural components with great potential for use as drugs we can highlight flavonoids, our study object: they are polyphenolic compounds naturally present in vegetables, fruit, seeds, nuts and drinks like tea and red wine. These molecules are derived from benzo- γ -pirone and present a wide range of biological activity (antiallergenic, anti-inflammatory, antioxidant, antiviral and anticarcinogenic). With CHARMM General Force Field (CGenFF), we intend to model heterocyclic compounds, which act as a base for the majority of pharmacological compounds. In our study, chromone will be modeled first, further serving as scaffold for coumarin, used as flavoring, quercetin and, consequently, for several glycosylated flavonoids. Given the availability of a wide number of heterocycles and functional groups, the efforts towards the extension of force fields should involve the bond among those groups to create the molecule of interest. This study proposes the understanding of the methodology employed in the development of parameters of CGenFF and its application to model flavonoids of pharmacological interest, followed by the model validation through molecular dynamic simulations.

Keywords: Force field. Flavonoid. Modelling

Sumário

Capítulo 1

Introdução	13
Campos de força	14
Flavonoides	17
Objetivos	19

Capítulo 2

Metodologia	21
2.1 – A função potencial	21
2.1.1 – Potenciais harmônicos	21
2.1.2 – Potencial torcional	22
2.1.3 - Potenciais entre átomos não diretamente ligados	22
2.1.4 - Interação de van der Waals	23
2.1.5 - Potencial de Coulomb	24
2.1.6 - Função energia potencial total	25
2.2 - O CGenFF - Filosofia de parametrização	25
2.2.1 - Dados alvo	27
2.3 - Procedimento de modelagem usando o <i>fftk</i>	29
2.3.1 – Preparação do sistema	30
2.3.2 – Otimização de geometria	31
2.3.3 – Otimização das cargas	31
2.3.4 – Otimização das ligações, ângulos e respectivas constantes de força	33

2.3.5 – Otimização dos diedrais	34
2.4 - Detalhes computacionais	36

Capítulo 3

Resultados e discussões	38
3.1- Modelagem do chromone	39
3.1.1 – Preparação do sistema	39
3.1.2 - Otimização da geometria	40
3.1.3 – Otimização das cargas	40
3.1.4 – Otimização das ligações, ângulos e respectivas constantes de força	43
3.1.5 – Otimização dos diedrais	45
3.1.6 – Simulação da molécula em água	50
3.2 - Modelagem do 1,2-dihidroxibenzeno	58
3.2.1 – Preparação do sistema	59
3.2.2 - Otimização da geometria	59
3.2.3 – Otimização das cargas	60
3.2.4 – Otimização dos diedrais	61
3.2.5 – Simulação da molécula em água	63
3.3 – Construção e modelagem da quercetina	64
3.3.1 – Preparação do sistema	64
3.3.2 - Otimização da geometria	66
3.3.3 – Otimização das cargas	66
3.3.4 – Otimização das ligações, ângulos e respectivas constantes de força	68
3.3.5 – Otimização dos diedrais	70
3.3.6 – Simulação da quercetina em água	72
3.4 - Modelagem de flavonoides glicosilados	76

3.4.1 – Modelagem do n55_Kaempferol-7-o-b-a-l-rhamnopira	76
3.4.2 – Modelagem do n59_Apigenina-6-c-b-d-glucopira	82
Conclusões	89
Anexo A	91
Anexo B	96
Anexo C	101
Anexo D	108
Anexo E	111
Referências Bibliográficas	116

Capítulo 1

Introdução

A utilização de simulações computacionais como ferramenta no estudo dos mais variados sistemas é hoje uma realidade. A análise conjunta de resultados oriundos de experimentos reais e virtuais permite um entendimento muito mais geral dos fenômenos envolvidos, acarretando numa caracterização mais completa dos sistemas de interesse. A aplicação de simulações no estudo de sistemas moleculares traz a possibilidade de se observar o comportamento, organização e interação entre os componentes em nível atômico/molecular e obter propriedades importantes utilizando técnicas específicas, fazendo desses cálculos ferramentas úteis para estudos em físico-química. Dentre as inúmeras técnicas de simulação computacional existentes, a Dinâmica Molecular (DM) é uma das mais difundidas atualmente, pois fornece resultados extremamente satisfatórios e confiáveis [1-3]. Esta técnica consiste na resolução das equações de movimento da mecânica clássica aplicadas no estudo de sistemas moleculares, em especial de macromoléculas biológicas. Isso torna possível o estudo de sistemas complexos, em que se tratam as interações entre os átomos sem, no entanto, considerar uma abordagem do ponto de vista da mecânica quântica, que, por considerar todas as interações entre partículas subatômicas (elétrons e prótons), se torna inviável devido ao alto custo computacional. Além disso, tais sistemas são muito complexos e constituídos por centenas de milhares de partículas, de modo que também é impossível encontrar suas propriedades analiticamente. Em virtude disso, a DM usa métodos numéricos para representar uma relação entre experiências de laboratório e teoria, o que faz com que alguns a interpretem como uma “experiência virtual”.

A obtenção, a partir de cálculos de DM, de uma trajetória contendo a evolução temporal do sistema permite uma gama de possíveis análises que podem nos fornecer desde a conformação mais estável do sistema em uma determinada temperatura até intrincadas correlações temporais de propriedades coletivas. É possível também calcular médias termodinâmicas de onde podemos obter propriedades macroscópicas do sistema estudado e, então, compará-las com valores obtidos experimentalmente, permitindo-nos correlacionar um comportamento microscópico com seu efeito sobre o sistema como um todo.

As primeiras simulações de Dinâmica Molecular foram realizadas por Alden e Wainwright no final da década de 1950 [4] usando um modelo de esferas rígidas com choques perfeitamente

elásticos para representar as interações atômicas. Nos anos 70 o termo dinâmica molecular ganhou popularidade na física, e veio para explicar a aplicação da mecânica clássica na determinação do equilíbrio de estruturas moleculares. Foi utilizada para examinar a dinâmica dos fenômenos a nível atômico que não podem ser observados diretamente. A primeira simulação de um líquido molecular, no caso a água, foi realizada por Stillinger em 1974 [5]. A evolução dos modelos e potenciais, juntamente com os avanços na área computacional permitiram a aplicação da técnica em sistemas biológicos, muito maiores e mais complexos. A primeira Dinâmica Molecular de uma proteína foi realizada por McCammon em 1977 para estudar a BPTI [6], e de uma membrana bilipídica por van der Ploeg e Berendsen em 1982 [7]. A popularidade da Dinâmica Molecular se estendeu a diversas áreas do conhecimento: na matemática, no que diz respeito à teoria ergódica e sistemas dinâmicos; na química, é uma ferramenta importante na determinação e refinamento de estruturas de proteínas em conjunto com técnicas experimentais a cristalografia de raios-X e NMR; além destes, também ganhou grande destaque na bioquímica figurando como a principal técnica de simulação computacional em se tratando de sistemas proteicos [8-13] ou contendo membranas biológicas [14-17].

Para descrever os sistemas de uma forma mais simples e com menor custo computacional desacoplamos a informação nuclear da eletrônica e as resolvemos separadamente. Fazendo uso disso, na DM os efeitos eletrônicos não são calculados explicitamente, e a energia total é dada por um potencial que depende exclusivamente das posições dos átomos. A Dinâmica Molecular é, portanto, um método de modelagem molecular através de simulação computacional que trata de um sistema de átomos ou moléculas em que as forças são geradas por potenciais atômicos clássicos efetivos e aproximados. A função potencial e sua respectiva parametrização são chamadas, genericamente, de campo de forças, que define os termos que descrevem como as partículas da simulação interagirão.

Campos de Força

Dentre a grande variedade de campos de forças existentes, o CHARMM (Chemistry at HARvard Molecular Mechanics) [18] é um dos campos de força mais antigos e vastamente utilizados, incluindo parâmetros para proteínas, ácidos nucleicos, lipídios e carboidratos. CHARMM é também o nome de um dos pacotes computacionais para simulação por dinâmica molecular que suporta este campo de forças: é um programa que gera e analisa simulações macromoleculares, incluindo

minimizações de energia, simulações por dinâmica molecular e Monte Carlo. Foi desenvolvido inicialmente no grupo de pesquisa do professor Martin Karplus – galardoado com o nobel da química em 2013 - na Universidade de Harvard e posteriormente adquiriu contribuições de desenvolvedores por todo o mundo.

O campo de força GROMOS [19] faz parte de um pacote computacional de mesmo nome, proposto para a simulação por dinâmica molecular para estudo de sistemas biomoleculares. O pacote computacional gratuito GROMACS (**GRO**ningen **MA**chine for **C**hemical **S**imulations) é baseado no GROMOS e também desenvolvido na universidade de Groningen, pelo mesmo grupo de pesquisadores. O GROMACS suporta todos os conjuntos de parâmetros do campo de forças GROMOS. A transição entre os dois programas é marcada pela adição de alguns elementos ao GROMACS, tais como o cálculo de um único virial e não de uma soma dupla sobre as partículas, a representação de todas as possíveis caixas periódicas como caixas triclinicas, entre outras.

O NAMD (Not (just) **A**nother **M**olecular **D**ynamics) [20] é também um pacote computacional gratuito para simulação por dinâmica molecular desenvolvido na Universidade de Illinois, que usa um modelo de programação paralela com base no charmm++ (uma versão do CHARMM escrita na linguagem computacional C++) e se destaca por sua eficiência, sendo muitas vezes usado para sistemas grandes, com milhões de partículas. O NAMD é fortemente vinculado ao programa para gráficos moleculares VMD (Visual Molecular Dynamics), para visualização e análise da trajetória.

Embora o CHARMM seja suportado pelo pacote computacional de mesmo nome, este campo de forças é suportado por outros pacotes computacionais tais como o GROMACS e o NAMD, os maiores pacotes de dinâmica molecular gratuitos na atualidade. Desse modo, o CHARMM se tornou um campo de forças de grande destaque, devido à amplitude de moléculas que ele pode descrever. Há muitos esforços envolvidos no aperfeiçoamento dos campos de força e nos programas, de modo que há um ritmo considerável no desenvolvimento de novos modelos. Estes modelos, por sua vez, são bastante simples e altamente divulgados por seus desenvolvedores, como se pode observar diante da vasta gama de tutoriais e fóruns de discussão encontrados nos web sites dos grupos de pesquisa responsáveis pela criação destes modelos. Um exemplo disso é a introdução do CGenFF (Charmm **G**eneral **F**orce **F**ield [21], uma extensão do CHARMM que abrange um amplo conjunto de grupos químicos presentes em biomoléculas e fármacos, incluindo um grande número de anéis heterocíclicos. De fato, o CHARMM, além de proteínas, suporta ácidos nucleicos e lipídios, e um número crescente de carboidratos, o que permite simulações de grande parte dos sistemas biológicos comumente propostos. No entanto, a abrangência destes campos de força é

limitada para a medicina e química computacional.

Estão disponíveis também outros campos de força orgânicos com ampla cobertura de moléculas farmacológicas. O Campo de Forças Molecular Merck (MMFF94) [22] foi desenvolvido com o objetivo explícito de realizar simulações de dinâmica molecular em sistemas de relevância farmacológica de fase condensada. Ele foi originalmente concebido como "uma combinação de campo de força para moléculas orgânicas e que é igualmente aplicável para proteínas e outros sistemas de interesse biológico"[23]. Uma desvantagem desta aproximação é que um campo de forças é construído inerentemente com precisão para representar classes de moléculas num espaço químico bem definido, ou seja, ele deve reproduzir bem as propriedades ou de compostos orgânicos, ou de compostos biológicos tais como as proteínas. Como tentativa de resolver tal questão, o Amber passou a incluir o General Amber Force Field (GAFF) [24] e o Antechamber toolkit [25], que permite a geração de um modelo de campo de forças Amber para uma molécula arbitrária.

Pode ser tentador combinar um campo de forças biomolecular (como o CHARMM) para sistemas biológicos com um campo de forças orgânico (como o MMFF94) para fármacos. No entanto, tal procedimento pode ser inviável porque cada um usa estratégias diferentes para a criação dos parâmetros de acordo com a classe de moléculas a se tratar. Para resolver este problema, então, o CHARMM General Force Field (CGenFF) foi criado. Ele é um campo de forças orgânico com o objetivo explícito de simular moléculas farmacológicas em um meio biológico, representado pelo campo de forças biomolecular CHARMM. Consequentemente, o CGenFF usa a mesma classe de função potencial dos outros campos de força CHARMM, assim como, e de maneira mais geral, todas as convenções para uso do campo de forças CHARMM.

Para a construção de um campo de forças bem sucedido é essencial a definição do espaço químico a ser tratado, através da escolha de componentes apropriados. Para a criação do CGenFF, são almejadas duas classes de compostos: uma delas abrange uma vasta gama de compostos heterocíclicos, que agem como o principal constituinte para a maioria dos compostos farmacológicos. Por isto, é fortemente enfatizada a precisão da otimização dos parâmetros intermoleculares dessas moléculas, bem como a reprodução de suas geometrias, espectros vibracionais e propriedades conformacionais. A segunda classe abrange uma variedade de grupos funcionais simples. Tais grupos são comumente encontrados em componentes naturais, exercendo o papel de ligar diferentes partes da molécula, tomando a forma de substituintes aromáticos e grupos heterocíclicos, às vezes em orientações que envolvem interações diretas com os pares de ligantes biomacromoleculares. De acordo com isso, um grande número de ligantes macromoleculares foram

explicitamente parametrizados quando o CGenFF foi construído.

A construção da versão inicial do CGenFF foi baseada em moléculas componentes do CHARMM como, por exemplo, o fenol, parametrizado como um precursor para a tirosina. Todos os parâmetros já disponíveis no CHARMM são convertidos e combinados de modo a produzir novos tipos de átomos. Mesmo assim, o CGenFF deve ser usado apenas para moléculas farmacológicas; as macromoléculas biológicas devem ser representadas pelo campo de forças CHARMM original.

Flavonoides

Flavonoides são compostos geralmente presentes em plantas e vegetais comestíveis: nas plantas, controlam os níveis de auxina, hormônio responsável por regular o crescimento das plantas; em vegetais comestíveis fornecem cor, textura e sabor. Inicialmente, foram identificados como vitamina P que, juntamente com a vitamina C, eram consideradas importantes para resistência capilar e manutenção da parede capilar; posteriormente, foram identificadas também funções anti hipertensiva, anti inflamatória, anti tumoral, anti alérgica, entre outras. Como estão presentes em plantas e vegetais, os flavonoides inevitavelmente fazem parte de nossa dieta, com o total estimado de aproximadamente 1g/dia . Geralmente entram no organismo na forma de glicosídeos, e por sua natureza hidrofílica não são absorvidos no intestino delgado. Muitas das funções biológicas dos flavonoides são associadas à sua capacidade de ligar-se a metais, os que os torna “varredores” de radicais livre e, com isso, protegem os tecidos contra radicais livres de oxigênio e peroxidação de lipídeos [26].

Os flavonoides consistem de uma estrutura de três anéis A, B e C, possuindo dois anéis aromáticos (anéis A e B), sendo que o C contém o grupamento pirona, como mostrado na figura 1.1:

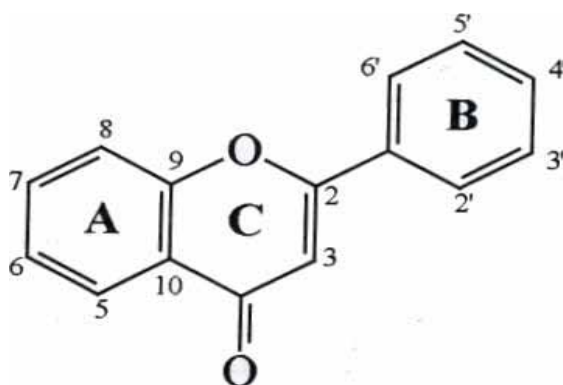


Figura 1.1 : Estrutura básica dos flavonoides

Os flavonoides são compostos por subunidades derivadas de duas ou mais vias biossintéticas mistas: o anel A é biossintetizado pela condensação de três moles de malonil coenzima A derivado do metabolismo da glicose; os anéis B e C são obtidos através do metabolismo da glicose através da via do ácido chiquímico.

Na natureza é encontrada uma vasta gama de flavonoides, cuja descrição ocorre a partir de sua estrutura química, e, principalmente, a partir do seu grau de oxidação presente no anel C. Ocorrem com frequência como glicosídeos.

A primeira molécula que iremos tratar será a quercetina, um composto fenólico disponível em plantas com propriedades farmacológicas. É encontrada em vegetais como maçã, cebola, brócolis, em infusões de chá, sucos de frutas e vinhos. Quimicamente, a quercetina é uma aglucona da rutina e de outros glicosídeos.

O crescente interesse no estudo deste composto advém das publicações sobre seus efeitos farmacológicos. Um deles é o efeito anti viral. A quercetina teve reconhecida sua capacidade contra vírus envelopados, como, por exemplo, vírus sincicrial respiratório [26]. Isso se deve à sua capacidade de se ligar à proteína de revestimento viral interferindo na síntese de ácidos nucleicos virais. De modo mais geral, a quercetina se liga à proteína de revestimento viral e a danifica, impedindo a capacidade proliferativa de substâncias tóxicas ou de algum vírus. A quercetina apresenta também efeito antitumoral: ela tem sido estudada também na presença de agentes cancerígenos. Um exemplo é um estudo em ratos, que mostrou que a administração de quercetina pode inibir o crescimento de tumores relacionados ao cancer de pele. Isso faz com que a quercetina possa ser considerada um agente eficaz na prevenção deste tipo de câncer, o que pode ser relacionado à sua capacidade de promover um corte na comunicação entre células tumorais. A quercetina inibe reações que contribuem para a formação de cataratas em diabéticos, inibe o transporte de glicose para adipócitos, e aumenta a atividade de enzimas envolvidas na quebra de moléculas de gordura, o que sugere que este flavonoide desempenha um papel importante no tratameto contra a obesidade [28-30].

Vamos modelar também algumas cumarinas. Elas estão presentes em várias espécies de plantas. Possuem odor forte e característico de baunilha; são utilizadas como fixadores de perfumes, aromatizantes de alimentos, produtos de limpeza, entre outros. Possui também propriedades antibióticas tais como anticoagulante, bronco dilatadora e fungicida. Pode ser encontrada no morango, cereja e damasco e em plantas tais como guaco, emburana, agrião, cumaru, canela, entre outras [31].

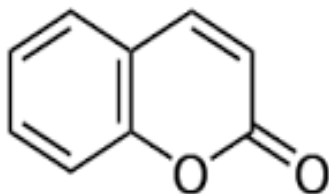


Figura 1.2: Estrutura básica da cumarina

Objetivos

O presente trabalho tem por objetivo a apresentação, familiarização e aplicação da metodologia do CGenFF para o desenvolvimento de parâmetros para moléculas orgânicas de interesse farmacológico. Com a modelagem adequada de tais moléculas possibilitaremos, então, o estudo da interação das mesmas com diferentes sistemas biomoleculares utilizando simulações de Dinâmica Molecular. Pretendemos, com isso, contribuir significativamente para um melhor entendimento da físico-química envolvida no mecanismo de ação destes compostos.

O procedimento de modelagem detalhado e completo será mostrado para a quercetina, através da modelagem e posterior ligação do chromone e do 1,2-di-hidroxibenzeno; uma vez modelada a quercetina, mostramos a parametrização da ligação de anéis de açúcar para formar os flavonoides glicosilados n55_Kaempferol-7-o-b-a-l-rhamnopira e n59_Apigenina-6-c-b-d-glucopira. Após a modelagem, validamos os modelos através de simulações por dinâmica molecular desses flavonoides em água. As demais moléculas – demais flavonoides e as cumarinas - terão seus parâmetros exibidos nos anexos. Algumas moléculas nem chegarão a passar pelo processo de parametrização, uma vez que os parâmetros que as descrevem já foram obtidos para outras moléculas, e podem ser obtidos por analogia.

Os objetivos se resumem, então, nos seguintes itens:

- Compreensão da metodologia de desenvolvimento de parâmetros do CGenFF;
- Aplicação dessa metodologia ao desenvolvimento de modelos para flavonoides e cumarinas de interesse;
- Validação dos modelos desenvolvidos.

Na tabela 1.1 estão os nomes das moléculas modeladas; as estruturas encontram-se nos anexos.

Tabela 1.1: Moléculas modeladas.

Chromone
1-2-di-hidroxibenzeno
Quercetina
CUMARINAS
Cumarina
Esculetina
4-metil-esculetina
FLAVONOIDES DERIVADOS DA QUERCETINA
Quercetina-n2
DRGFIN
Quercetina-n2
DRGFIN
DRGFIN_na
n11_miricetina
n29_Kaempferol
n64_Apigenina
FLAVONOIDES GLICOSILADOS
Mangiferina
n28_Kaempferol-3-o-b-d-gluco
n32_Quercetina_7-o-b-d-glucopira
n34_Kaempferol-3-o-b-d-xilanopirano
n43_4-5-6-triidroxi-7-metoxiflavona
n55_Kaempferol-7-o-b-a-l-rhamnopira
n59_Apigenina-6-c-b-d-glucopira
n71_Miricetina-3-o-b-d-Glucopira

Capítulo 2

Metodologia

2.1 - A função potencial

Para se obter bons resultados nas simulações computacionais é necessário o uso de modelos que reproduzam adequadamente o comportamento do sistema em estudo. Os campos de força podem diferir nas funções potenciais escolhidas e na forma como seus parâmetros são validados. Os parâmetros são geralmente obtidos a partir de dados experimentais e cálculos quânticos sobre pequenas moléculas. O sistema possui uma função potencial com termos vindos do campo de força. Partindo-se disso, as informações são obtidas derivando-se esta função potencial do campo de força.

Termos comuns entre os campos de força são os termos harmônicos, que descrevem as ligações covalentes entre pares de átomos e ângulos entre ligações químicas, termos torcionais, que descrevem as rotações em torno das ligações, e termos que descrevem interações entre átomos não diretamente ligados, levando em conta a impenetrabilidade das nuvens eletrônicas, forças de dispersão e indução dipolar, e atrações e repulsões eletrostáticas. A seguir, temos uma breve descrição de cada termos gerais para a maioria dos campos de força e que, somados, constituem a função potencial.

2.1.1 - Potenciais harmônicos

Termos clássicos representam vibrações características das moléculas. São determinados por suas massas atômicas e pela natureza das ligações químicas. Devido à agitação térmica, o comprimento da ligação química de uma molécula pode oscilar. À temperatura ambiente, essas oscilações não assumem valores muito diferentes do valor de equilíbrio obedecendo a uma função aproximada ao potencial de Hooke para um sistema massa-mola. Desse modo, cada ligação entre pares de átomos contribui para a energia potencial molecular com:

$$V_b = \frac{1}{2} K_b (b - b_0)^2 \quad (1)$$

onde b_0 é o comprimento de equilíbrio da ligação e b o comprimento num instante qualquer; K_b é a

constante elástica associada à ligação química específica.

De modo análogo, o ângulo entre três átomos com ligações covalentes e consecutivas pode também flutuar em torno de um ângulo de equilíbrio obedecendo o potencial:

$$V_{\theta} = \frac{1}{2} K_{\theta} (\theta - \theta_0)^2 \quad (2)$$

sendo K_{θ} a constante de força para restituição do ângulo de equilíbrio, que determina quão difícil é a distorção do ângulo; θ é a variação angular ao longo do termo e θ_0 é o ângulo de equilíbrio, que depende de fatores como hibridação dos orbitais atômicos e simetria da região à que pertence na molécula.

2.1.2 - Potencial torcional

O chamado potencial diedral próprio é aquele que descreve as rotações em torno de ligações químicas e é dado tomando-se uma expansão em série de cossenos:

$$V_{\phi} = K_{\phi} \sum [1 + \cos(n\phi - \delta)] \quad (3)$$

onde n é o número de mínimos para o perfil de energia de uma certa ligação química, ϕ é o ângulo diedral, δ é a fase do ângulo diedral e K_{ϕ} é a constante que define a altura da barreira de rotação [19]. Este potencial descreve a simetria rotacional das ligações químicas com liberdade de rotação. Os ângulos diedrais são formados por quatro átomos em sequência onde os três primeiros formam um plano que faz um ângulo ϕ com o plano formado pelos três últimos. Os valores dos parâmetros utilizados, tanto para os potenciais harmônicos quanto para o torcional, dependem de cada tipo de ligação química e sua vizinhança em particular.

2.1.3 - Potenciais entre átomos não diretamente ligados

As interações entre átomos não diretamente ligados são tratados por potenciais efetivos com termos de longa distância. O potencial de Lennard-Jones – usado para representar as interações de van der Waals – e o potencial eletrostático de Coulomb constituem esses tipos de potenciais que agem sobre moléculas que interagem entre si ou mesmo entre átomos de uma única molécula

separados pelos primeiros e segundos vizinhos. Esses potenciais regem todas as interações entre átomos não diretamente ligados ou interações intramoleculares com o solvente, definindo, assim, as conformações das macromoléculas no meio biológico.

2.1.4 - Interação de van der Waals

A equação de van der Waals desenvolvida por Jan van der Waals em 1873, é baseada em uma correção na equação de estado para os gases ideais ($PN = nrt$), o que implica numa aproximação melhor para o comportamento de gases nas condições em que ocorrem interações entre partículas. A equação dos gases ideais segue um modelo em que as moléculas são consideradas como pontos que se movem livremente e colidem com os planos do recipiente que as contém exercendo uma pressão P .

O termo repulsivo de van der Waals surge com a primeira correção da equação dos gases ideais: as moléculas não são tratadas como partículas pontuais, mas cada uma tem um volume diferente de zero. Este termo de curtíssimo alcance considera o volume excluído no tratamento dos gases ideais, de modo que, à medida que as moléculas ficam muito próximas, o termo repulsivo impede a interpenetração das nuvens eletrônicas, respeitando uma combinação entre repulsão interatômica e o princípio de exclusão de Pauli, que proíbe que pares de elétrons com os mesmos números quânticos ocupem a mesma região do espaço.

A segunda correção vem da existência de forças entre as moléculas. Essas forças atuam em todas as direções, e, por isso, tendem a se cancelar. No entanto, cada molécula experimenta uma força de atração das moléculas restantes, e essa força reduz a pressão efetiva que a molécula exerce nas paredes do recipiente. Essa diminuição na pressão deve ser proporcional ao número de pares de moléculas interagentes. O termo atrativo de van der Waals surge com esta correção na pressão para incluir os efeitos dessas forças atrativas.

Pequenas flutuações na densidade eletrônica em torno do núcleo podem produzir um momento de dipolo instantâneo, e, conseqüentemente, interações atrativas do tipo dipolo-dipolo ou dipolo-dipolo induzido entre moléculas que não façam ligações de hidrogênio. A interação dipolo-dipolo, ou dispersão de London é de curto alcance e proporcional ao inverso da sexta potência da distância de separação entre os núcleos atômicos. Combinando-se os termos atrativo e repulsivo resultantes das correções feitas na equação dos gases ideais, obtemos o chamado potencial de Lennard-Jones [36]:

$$V_{LJ} = 4\epsilon \left[\left(\frac{\sigma}{r} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{r} \right)^6 \right] \quad (4)$$

onde ϵ é a profundidade do poço de potencial e σ é o diâmetro de Lennard Jones, parâmetros estes que dependem da natureza dos pares de átomos e são ajustados empiricamente.

2.1.5 - Potencial de Coulomb

Este potencial descreve as interações consideradas de longo alcance. Numa ligação química entre átomos diferentes, os elétrons podem se deslocar sobre um dos átomos de acordo com sua eletronegatividade; em virtude dessa preferência dos elétrons de se deslocarem para átomos mais eletronegativos, a maioria das ligações covalentes serão pequenos dipolos elétricos, cuja magnitude depende da diferença de eletronegatividade entre os átomos que compõem essas ligações.

A disposição dos átomos eletronegativos na cadeia peptídica é fator determinante para a estabilidade da estrutura secundária de proteínas. As interações entre as cadeias laterais de aminoácidos carregados (Lys, Arg, Glu, Asp, His, N- e C- terminal e íons) polares ou formadores de dipolos (Ser, Asn, Glu, NH, NH₂, C=O, OH e água) e quadrupolos são responsáveis, em muitos casos, pela atividade biológica de determinados sistemas [37]. Na ausência de água, isto se dá devido às ligações de hidrogênio (C=O...H-N) entre várias partes do esqueleto peptídico; nas superfícies expostas ao solvente, as ligações podem ser feitas com a própria água. Uma das formas de determinação de cargas eletrônicas parciais é o cálculo *ab-initio* da densidade de cargas no estado eletrônico fundamental.

Em campos de força moleculares, as cargas são colocadas no ponto central dos átomos, dimensionados no termo de van der Waals. O potencial eletrostático é dado pela lei de Coulomb:

$$V_{Coulomb} = \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0 \epsilon r} \quad (5)$$

onde q_i e q_j são as cargas residuais sobre os átomos i e j , separados pela distância r , $\epsilon_0 = 8,853 \cdot 10^{-12}$ (unidade do S.I.) é a permissividade no espaço livre, ϵ é a constante dielétrica, usada para considerar a polarização do meio.

2.1.6 - Função energia potencial total

Tendo descrito cada potencial separadamente, podemos agora construir a função energia potencial total pela soma de todos estes termos:

$$V(r_i) = V(r_1, r_2, \dots, r_{Nat}) = \sum K_\phi [1 + \cos(n\phi - \delta)] + \sum \frac{1}{2} K_b (b - b_0)^2 + \frac{1}{2} K_\theta (\theta - \theta_0)^2 +$$

$$\sum \sum \left\{ 4\epsilon \left[\left(\frac{\sigma}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{r_{ij}} \right)^6 \right] + \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0 \epsilon r_{ij}} \right\} \quad (6)$$

Esta função descreve as interações entre todos os átomos do sistema. A escolha de um campo de força depende do sistema a ser estudado e de suas propriedades. Algumas funções potenciais incluem termos específicos para se tratar as ligações de hidrogênio. Embora existam também funções que procuram uma melhor concordância com espectros vibracionais, as conformações de macromoléculas dependem mais de torções, repulsões, atrações de van der Waals e interações eletrostáticas.

2.2 - O CGenFF - Filosofia de parametrização

Uma vez que conhecemos os parâmetros que devem ser obtidos, o principal desafio no desenvolvimento de qualquer campo de forças é criar um protocolo de modelagem sistemático e robusto para a obtenção dos parâmetros. Tal protocolo deve ter um nível de precisão apropriado para a posterior aplicação nos campos de força já existentes, de modo que o conhecimento já obtido acerca do campo de forças CHARMM possa ser facilmente estendido para os grupos químicos de interesse tratados por esse novo campo de força. Por esta razão, o procedimento padrão de otimização do CHARMM tem sido simplificado para a criação do CGenFF, com uma ênfase maior em cálculos de mecânica quântica do que no campo de forças biomolecular [24]. No entanto, tais simplificações devem manter a consistência necessária com o campo de forças original, permitindo a normal realização de estudos computacionais de sistemas heterogêneos. Na verdade, as melhorias no poder computacional e na metodologia da mecânica quântica permitem que cálculos quânticos com nível de teoria suficientemente alto alcancem a precisão necessária.

Para reproduzir corretamente o comportamento físico na fase de bulk, são usados dados experimentais e de mecânica quântica durante a otimização de parâmetros não ligados. No entanto, a reprodução de dados experimentais através de simulações por dinâmica molecular pode ter um alto custo temporal. Além disso, muitos grupos funcionais ainda não têm dados experimentais disponíveis. Por esta razão, a otimização dos parâmetros terá mais ênfase em resultados de mecânica quântica do que em resultados experimentais. Os únicos casos em que dados experimentais serão necessários são situações onde tipos de átomos originais estão presentes e cujos parâmetros de Lennard Jones ainda não estão disponíveis no CGenFF [24].

O primeiro passo para a adição de uma nova molécula no CGenFF é a criação e definição de um arquivo de topologia. Esse arquivo inclui os tipos de átomos do CGenFF e as cargas atômicas parciais. Para isto devemos, primeiramente, gerar a estrutura e identificar os componentes da molécula de interesse que já estão disponíveis no campo de forças. Depois disso, criamos uma lista dos parâmetros que estão faltando e precisam ser calculados [37]. Esses parâmetros podem ser 1) obtidos através de analogia com aqueles já existentes para átomos quimicamente similares (as vezes chamados de parâmetros “coringa”) ou 2) calculados e adicionados explicitamente ao campo de força através de sua inclusão nos arquivos de parâmetros. No primeiro caso, os parâmetros estimados devem ser testados através dos cálculos de validação a fim de determinar se esses parâmetros estão, de fato, produzindo geometrias e energias conformacionais satisfatórias para a molécula que estamos tratando. Isto envolve realizar simulações de dinâmica molecular e checar se as propriedades almejadas estão sendo adequadamente reproduzidas. No segundo caso, é feita a otimização de parâmetros novos requeridos pela molécula através cálculos de mecânica quântica, seguidos por mecânica molecular e otimização. Isso tem por objetivo minimizar a diferença entre os dados de mecânica quântica e mecânica molecular. O desenvolvimento do CGenFF requer que, para uma dada molécula, apenas os parâmetros novos sejam otimizados, garantindo, assim, que seja mantida a integridade de uma molécula previamente otimizada de onde foram extraídos os parâmetros que serviram para dar início ao arquivo de topologia da molécula que estamos tratando. Apesar disso, pode-se otimizar novamente parâmetros que já estão disponíveis no campo de força, muito embora isso possa comprometer a qualidade de moléculas já otimizadas. Nesse caso, os parâmetros novamente otimizados devem ser usados somente para nosso objeto de estudo, e não devem ser adicionados ao campo de força [24].

O campo de forças inclui internamente uma vasta gama de parâmetros padrão para a maioria dos ligantes. Dada a disponibilidade de um vasto número de heterociclos e grupos funcionais, os esforços para a extensão do campo de força devem envolver a ligação desses grupos para criar a

molécula de interesse. Esse procedimento requer primeiramente a seleção de fragmentos apropriados de moléculas no CGenFF para a ligação covalente desses anéis e grupos funcionais, criando, assim, moléculas mais complexas. Para fazer isso, deve-se, primeiro, remover os átomos de hidrogênio ligados a átomos pesados, entre os quais serão criadas novas ligações covalentes. As cargas desses átomos de hidrogênio são somadas a seus átomos de origem, preservando, assim, a carga total da molécula. No caso da adição de grupos funcionais a uma molécula já existente, nenhum parâmetro adicional é requerido e a molécula está pronta para ser estudada.

É importante que seja apresentada uma série de cálculos de mecânica quântica bem definidos para testar as propriedades conformacionais dos ligantes entre os anéis constituintes da molécula de interesse, bem como para comparar as propriedades conformacionais de mecânica quântica e mecânica molecular, e apresentar a otimização apropriada. Se forem necessários novos parâmetros, como pode ser o caso quando grupos funcionais mais complexos ou ligantes são adicionados, será necessário atribuir os parâmetros "coringa" ou adicionar parâmetros que serão calculados explicitamente, seguindo-se por validação e otimização adequadas.

Quando trabalhamos com um novo componente, geralmente haverá um número de parâmetros que precisam ser validados. É muito importante obter a melhor estimativa possível para cada parâmetro, pois desse modo é maior a possibilidade de que os parâmetros estejam adequados e não seja necessário se fazer a otimização. Caso a otimização seja, de fato, necessária, a alteração dos parâmetros será menor se boas estimativas iniciais forem feitas. Valores iniciais para estes novos parâmetros podem ser baseados em parâmetros análogos para espécies químicas já disponíveis no CGenFF. Isso diminui a probabilidade de que seja necessária mais de uma iteração durante o processo de otimização.

Uma vez que estimativas iniciais são feitas para os novos parâmetros, é necessário testar, então, se será necessária otimização. Esse teste é baseado em cálculos de mecânica quântica e mecânica molecular. Caso certo nível de aceitação não seja satisfeito, deve-se realizar a otimização.

2.2.1 - Dados alvo

Para o desenvolvimento dos parâmetros da molécula que queremos estudar é necessário gerar dados “alvo” apropriados. De acordo com a filosofia de parametrização do CGenFF, esses dados alvo serão obtidos através de cálculos de mecânica quântica, exceto para os casos onde será necessária a otimização de parâmetros de Lennard Jones, obtidos experimentalmente. São apresentados, a seguir, detalhes sobre a geração desses dados alvo e sua posterior utilização para a otimização dos

parâmetros da molécula em estudo. Especificamente, os diferentes tipos de parâmetros são geralmente otimizados na seguinte ordem:

1) Parâmetros externos ou não ligados: basicamente, tratam as cargas parciais atômicas e, apenas em casos especiais, parâmetros de Lennard Jones.

a) Carga atômica parcial: Estimativas iniciais podem ser feitas por analogia com átomos quimicamente similares ou pelas cargas no nível e teoria MP2/6-31G(d), o que já produz uma boa estimativa para as magnitudes das cargas parciais atômicas no CGenFF.

Para a otimização das cargas, são usados como dados alvo os cálculos quânticos 1) do momento de dipolo na fase gasosa e 2) as interações entre o composto de interesse, otimizado na geometria MP2/6-31G(d), e moléculas de água na geometria TIP3P. O primeiro serve como um guia para a otimização das cargas para componentes com carga líquida nula; o segundo, e mais relevante, trata-se da construção de um complexo em que, para cada hidrogênio aceptor ou doador da molécula de interesse, é idealizada uma ligação de hidrogênio com uma molécula de água, sendo a distância de interação entre essas moléculas otimizada no nível de teoria HF/6-31G(d), com todos os demais graus de liberdade fixos. O nível de teoria HF/6-31G(d), o dimensionamento das energias e das distâncias são usados para manter a compatibilidade com os demais campos de força CHARMM, utilizados para outras moléculas (proteínas, carboidratos, etc). Apesar da possibilidade de níveis de teoria mais altos conduzirem a uma maior precisão nas energias e geometrias das ligações de hidrogênio, seu uso pode causar um desequilíbrio nas interações de longa distância entre os diferentes campos de forças CHARMM, o que compromete o posterior estudo de interações entre as moléculas orgânicas com moléculas biológicas ou até mesmo com o solvente.

Existem algumas regras que facilitam a otimização das cargas: hidrogênios alifáticos sempre terão carga $+0.09e$; se estiverem localizados em um átomo de carbono alifático ligado diretamente ou adjacente a um átomo de nitrogênio carregado positivamente, devem assumir uma carga de $+0.28e$. Átomos de carbono e hidrogênio aromáticos, não adjacentes a heteroátomo, terão cargas $-0.115e$ e $+0.115e$, respectivamente.

b) Parâmetros de Lennard Jones: são os únicos parâmetros que implicam dados experimentais, nos quais a densidade dos solventes e calores de vaporização serão os dados alvo. Raramente será necessária a otimização destes parâmetros.

2) Parâmetros internos ou ligados: incluem otimização de geometrias, espectros vibracionais e energética conformacional.

a) Otimização dos termos de equilíbrio para ligações, ângulos de valência, multiplicidade e fase dos diedrais: são baseados em otimização de energia no nível MP2/6-31G(d) (ou MP2/6-31+G(d) no caso de ânions).

b) Otimização das constantes de força das ligações, ângulos de valência, e diedrais impróprios: seguem a escala do espectro vibracional MP2/6-31G(d). Frequências de oscilação obtidas por métodos *ab-initio* geralmente são maiores do que as obtidas experimentalmente. É necessário, então, a determinação de fatores de escala apropriados para se obter valores similares aos das frequências experimentais a partir dos valores teóricos. Para este nível de teoria, o fator de escala apropriado é de 0,943. Como os modos de frequência mais baixos geralmente representam maiores desvios na geometria das moléculas que ocorrem durante a simulação de dinâmica molecular, é importante reproduzi-los com maior precisão. Além disso, é indicado reproduzir frequências vibracionais ligeiramente inferiores aos valores almejados, o que torna a molécula mais flexível.

c) Otimização das constantes de força dos ângulos diedrais usando as superfícies de energia potencial MP2/6-31G(d). A otimização das constantes de força para torção compostos por átomos diferentes de hidrogênio é baseada no espectro vibracional (obtido do mesmo modo como descrito no passo anterior) e na reprodução de scans de energia potencial em nível de teoria MP2/6-31G(d), que, como já dito, apresenta bons resultados para nucleotídeos. A única exceção são os diedrais que envolvem um hidrogênio doador, tal como grupos -OH ou -SH. Na otimização desses parâmetros nem sempre é possível reproduzir totalmente a superfície de energia potencial. Nesse caso, devemos priorizar a reprodução do perfil de energia em regiões de baixa energia e baixas barreiras, pois essas serão as regiões mais populadas durante uma simulação de dinâmica molecular convencional.

2.3 - Procedimento de modelagem usando o *ffTK*

Para a modelagem de nossas moléculas, usaremos o plugin *force field toolkit* (*ffTK*), componente do *software* VMD (Visual Molecular Dynamics) [31], versão 1.9.2a19, um pacote computacional que nos possibilita a montagem, visualização e análise de simulações. A tabela 2.1 nos mostra a ordem dos procedimentos para a modelagem de uma molécula no plugin *fftk*:

Encontrar parâmetros a serem obtidos
Otimização de geometria
Interação com água
Otimização das cargas
Cálculo da matriz Hessiana
Otimização de ligações e ângulos
Scan de torções
Otimização dos diedrais

Tabela 2.1: Ordem dos procedimentos para a modelagem de uma molécula no *fftk*

2.3.1 – Preparação do sistema

Precisamos, primeiramente, de um arquivo *.pdb*, que contém uma geometria inicial da molécula que queremos tratar. Esse arquivo servirá para projetarmos uma estrutura inicial para a molécula, sem, ainda, conter detalhes exatos sobre sua conformação tridimensional, comprimentos das ligações, ângulos, etc. Em nosso trabalho, para construir a molécula e criar esse arquivo, usamos a ferramenta “*Molefactory*” do VMD. Com essa ferramenta criamos também um arquivo de topologia, de extensão *.psf*, que contém informações moleculares tais como os nomes e tipos de átomos do CGenFF, cargas parciais atômicas de cada átomo, as ligações covalentes, ângulos e diedrais da molécula. Uma vez que tenhamos estes arquivos, começamos o processo de parametrização propriamente dito.

O processo se inicia com a criação de um arquivo com todos os parâmetros que descrevem a molécula. Neste arquivo, constam os parâmetros de Lennard Jones, ligações, ângulos de valência, diedrais. Para criar este arquivo no *ffTK*, entramos com o arquivo *.psf* da molécula em estudo e os arquivos de parâmetros do CGenFF, que contém todos os parâmetros já otimizados e que constam no campo de força. Como iremos criar parâmetros que ainda não existem, a ferramenta irá “ler” o arquivo de parâmetros do campo de força e identificar aqueles já existentes; é gerada, então, uma lista apenas com os parâmetros da molécula que ainda não foram calculados, para os quais todos os valores estarão inicialmente definidos como zero. No que diz respeito aos parâmetros de Lennard-Jones, se não tivermos dados para os tipos de átomos específicos que estamos tratando, devemos utilizar os parâmetros do átomo mais quimicamente similar possível. Como já dito, tais parâmetros não são obtidos através do processo de modelagem, mas sim, através de dados experimentais, o que não será necessário neste trabalho.

2.3.2 – Otimização de geometria

Após a determinação e obtenção de estimativas iniciais para os parâmetros a serem modelados, iremos otimizar a geometria para encontrar uma estrutura de equilíbrio. Em virtude do elevado número de graus de liberdade das macromoléculas biológicas, a hypersuperfície de energia potencial é muito complexa, e se torna praticamente impossível encontrar um mínimo global de energia; é conveniente, ao menos, uma busca local. Para fazer essa otimização, usamos um arquivo *.pdb* gerado de forma que os grupos químicos estejam em uma conformação de menor energia possível, ou seja, numa conformação padrão. A otimização da geometria molecular busca um conjunto de coordenadas que minimizem a energia potencial do sistema, ajustando as posições atômicas, e relaxando a molécula, liberando, assim, a estrutura de possíveis conflitos estéricos. Percorre-se a superfície de potencial na direção em que a energia decresce, de modo que o sistema é dirigido a um mínimo de energia local. A configuração inicial não difere muito daquela obtida depois da minimização. A geometria é ajustada até que seja encontrado um ponto estacionário na superfície de potencial. Para executar este processo de minimização no *ffTK*, entramos com o arquivos *.pdb* e *.psf* (que geramos com a ferramenta *molefacture*) e obteremos um arquivo com extensão *.gau*, que servirá como arquivo de entrada para o *software* Gaussian 09. Este arquivo deve conter informações sobre as posições iniciais dos átomos e terá configurações para uma otimização no nível de teoria MP2/6-31G(d) para uma molécula neutra, o que deverá ser adequado para a maioria dos casos de otimização de geometria. O Gaussian irá apresentar como saída um arquivo com os cálculos pertinentes à otimização, e, com este, obteremos um novo arquivo *.pdb*, com a estrutura da molécula otimizada. A partir de então, este novo *.pdb* será usado nos demais passos do processo de modelagem e otimização da molécula.

2.3.3 – Otimização das cargas

Uma vez que fizemos uma otimização da geometria do sistema, calculamos as cargas parciais. Entramos com o arquivos *.pdb* e *.psf* que deverão conter as cargas dos átomos; alguns átomos já terão os valores das cargas estabelecidos pela metodologia do CGenFF, como já mencionado, e não participarão da otimização; os demais átomos, para os quais deveremos calcular as cargas, terão como estimativas iniciais os valores obtidos na otimização da geometria. Devemos identificar na molécula os átomos que podem agir como doadores ou aceitadores e que serão o “sítio” de uma

ligação de hidrogênio com água; é construído, então, um complexo entre o átomo sítio e uma molécula de água no modelo TIP3P [40], orientada idealmente de modo a formar essa ligação de hidrogênio e evitar repulsão estérica com os átomos covalentemente ligados ao átomo sítio da interação de hidrogênio. Para cada um dos monodratos do complexo é gerado um arquivo de entrada para o Gaussian [41] onde será calculada a energia de interação mínima em função da distância e do ângulo de rotação entre a água e a linha que a conecta ao sítio. Os graus de liberdade são restritos ao nível de teoria HF/6-31G(d), mantendo a consistência com os demais campos de força CHARMM [24, 42].

Esses cálculos nos fornecerão dados sobre a otimização de distância e da energia dos átomos dos monodratos. A energia será dada por $E_{\text{complexo}} - E_{\text{molécula}} - E_{\text{águaTIP3P}}$, onde $E_{\text{águaTIP3P}}$ (HF) = $-76,01053E_h$ para um molécula neutra. Além do cálculo de energia vindo da construção do complexo molécula de estudo-água, é realizado também o cálculo do momento de dipolo; o momento de dipolo juntamente com as distâncias e energias de interação constituem a função objetivo e compõem os dados alvo necessários para a otimização das cargas parciais.

Para as cargas parciais, a função objetiva visa então, o momento de dipolo, a energia mínima e a distância mínima de interação entre a molécula em estudo e as moléculas de água, e é dada por:

$$\psi_{\text{carga}} = \psi_{\text{interações}} + \psi_{\text{dipolo}} \quad (8)$$

sendo

$$\psi_{\text{interações}} = \sum w_i \left[\left(\frac{E^{QM} - E^{MM}}{E_{\text{escala}}} \right)^2 + w_{\text{dist}} \left(\frac{d^{QM} - d^{MM}}{d_{\text{escala}}} \right)^2 \right] \quad (9)$$

onde w_i e w_{dist} são os fatores pesos para a energia e distância de interação, respectivamente, $E_{\text{escala}} = 0,2 \text{ kcal/mol}$ e $d_{\text{escala}} = 0,1 \text{ \AA}$ são fatores de escala para a energia e distância de interação. O termo referente ao dipolo é dado por:

$$\psi_{\text{dipolo}} = N_{\text{cargas}} w_{\text{dipolo}} \left(\left(\frac{(p^{MM}/p^{QM}) - 1,2}{0,1} \right)^2 \text{sep}^{MM}/p^{QM} < 1,2 \right) + \left(\frac{(p^{MM}/p^{QM}) - 1,5}{0,1} \right)^2 \text{sep}^{MM}/p^{QM} > 1,5 \right) + \left(\begin{array}{l} 0 \text{ se } \Delta\theta < 30^\circ \\ p^{QM} \left(\frac{\Delta\theta - 30}{5} \right)^2 \text{ se } \Delta\theta > 30^\circ \end{array} \right) \quad (10)$$

onde $\Delta\theta$ é o ângulo entre os vetores momento de dipolo $\mathbf{p}^{MM}$ e $\mathbf{p}^{QM}$, N_{cargas} é o número de átomos que estamos tratando e w_{dipolo} é o fator peso momento de dipolo.

Para a otimização, atribuímos um valor inicial de carga com base nos valores obtidos para as cargas na otimização de geometria. Em nosso trabalho, permitimos que as cargas variem dentro de limites superior e inferior de $0,2e$. Átomos cujas cargas já foram estabelecidas não irão participar do processo de otimização. Além disso, átomos quimicamente equivalentes devem ter cargas de mesmo valor. Para cada complexo sítio-água alvo calculado por mecânica quântica, é calculada a correspondente energia de interação em função da distância por mecânica molecular utilizando os valores que atribuímos inicialmente para as cargas. Comparamos as energias obtidas por mecânica molecular e mecânica quântica e, através de passos de otimização, vamos ajustando as cargas, até que elas convirjam para valores tais que façam essas energias suficientemente próximas dentro de um certo critério de convergência. Após esse processo, criaremos um novo arquivo *.psf* com os valores de cargas obtidos para todos os átomos.

2.3.4 – Otimização das ligações, ângulos e respectivas constantes de força

Devemos, então, obter os valores para o comprimento das ligações, ângulos e suas respectivas constantes de força. Poderíamos reproduzir os dados experimentais do espectro vibracional da molécula - que utiliza como coordenadas os modos normais de vibração - através de cálculos de mecânica quântica, e usá-los como dados alvo para a otimização desses parâmetros. No entanto, o campo de força descreve as interações entre os átomos através de um potencial harmônico utilizando as coordenadas internas da molécula [43]. Em virtude dessa diferença de coordenadas, não podemos comparar diretamente os dados de mecânica quântica e mecânica molecular, como fizemos para calcular as cargas parciais. Como alternativa, o CHARMM indica que comparemos a Distribuição de Energia Potencial (PED, na sigla em inglês) obtido por mecânica quântica com o PED obtido por mecânica molecular. Para fazer esse cálculo na mecânica molecular, precisamos apenas atribuir valores iniciais para as ligações e os ângulos e, usando a função potencial do campo de força, calculamos a energia potencial de diferentes conformações. Na mecânica quântica, podemos descrever uma aproximação local da superfície de energia analisando os auto valores da matriz hessiana, que estão relacionados com as frequências vibracionais, previstos através da segunda derivada da energia em relação aos deslocamentos das coordenadas atômicas para as ligações e ângulos.

Para cada ligação ou ângulo, fazemos deslocamentos dos átomos em direções opostas

gerando duas novas conformações, para as quais calculamos a energia potencial e, assim, obtemos uma descrição local da superfície de energia. Na mecânica quântica o cálculo da variação de energia causada pelos deslocamentos é dado pela matriz Hessiana, que descreve uma aproximação local do PES para o movimento vibracional da molécula em função das coordenadas internas. O *fftk* determina quais as coordenadas internas afetadas para cada distorção e soma suas contribuições na energia, dadas por:

$$\Delta E = \sum \frac{1}{2} \frac{\partial^2 E}{\partial q_i \partial q_j} \delta q_i \delta q_j \quad (11)$$

onde q_i é a ligação ou ângulo alvo, a soma é feita sobre todas as coordenadas q_j , e a derivada é a entrada correspondente na matriz hessiana da mecânica quântica, calculada no nível de teoria MP2/6–31G(d) [23]. Comparamos as diferenças da energia obtidas por mecânica quântica e mecânica molecular, e vamos ajustando os parâmetros até que eles convirjam para valores que façam essas energias serem suficientemente similares. A função objetivo irá visar a conformação otimizada e a variação na energia causada pelos deslocamentos (0,1Å pra ligações e 5° para ângulos). A função é dada por

$$\psi_{\text{ligações}} = \left(\frac{q^{QM} - q^{MM}}{q_{\text{escala}}} \right)^2 + w_E \left(\frac{E_{\text{deslocamentos}}^{QM} - E_{\text{deslocamentos}}^{MM}}{E_{\text{escala}}} \right) \quad (12)$$

onde q é o valor minimizado para cada ligação ou ângulo, q_{escala} é 0,03 Å para ligações e 3° para ângulos, w_E é o fator peso para o componente da energia E_{escala} é 1 kcal/mol. Para analisar a função objetivo fazemos uma minimização na energia potencial usando os valores de parâmetros que irão sendo otimizados.

2.3.5 – Otimização dos diedrais

O último passo do processo de otimização é a determinação dos parâmetros diedrais, que descrevem as rotações em torno das ligações. Para isto, examinamos o perfil de energia potencial (PES) associado a cada um dos diedrais, o que chamamos de *scan*, no nível de teoria MP2/6-31G(d) [23], fixando valores para o diedral que queremos otimizar e mantendo o restante da molécula livre.

No *fftk* é feito um *scan* bidimensional para que seja possível atravessar conformações de alta energia, geralmente encontradas em sistemas de anéis, que, de modo especial, serão muito abordados neste trabalho. Os arquivos de saída do Gaussian irão apresentar também dados sobre regiões de baixa energia, de grande relevância para o processo de otimização. Para cada energia calculada na mecânica quântica deve ser calculada uma energia correspondente por mecânica molecular, que, para uma dada conformação de um dado diedral a ser otimizado será dada por:

$$V_{\phi} = \sum K_{j,n} [1 + \cos(n\phi_j - \delta_{j,n})] \quad (13)$$

O ângulo diedral ϕ_j é definido pela sequência de quatro átomos ligados, e a soma sobre as multiplicidades n é uma série de Fourier com coeficientes $K_{j,n}$ e ângulo de fase $\delta_{j,n}$. Depois de calculada a energia, é feita uma nova otimização da geometria, usando os parâmetros encontrados para as ligações e ângulos no passo anterior, garantindo, assim, que as aproximações feitas na obtenção desses parâmetros não irão afetar a otimização dos diedrais. Feito isso, para cada diedral *scaneado*, calculamos a energia por mecânica molecular, dada pela equação anterior, usando todos os termos obtidos anteriormente (ângulos, ligações, cargas) e atribuindo todos os termos $K_{j,n}$ como 0. Usamos o *simulated annealing* para calcular a diferença de potencial fazendo a subtração dos perfis de energia de mecânica quântica e mecânica molecular. Essa diferença é traçada pela equação anterior e os $K_{j,n}$ e $\phi_{j,n}$ resultantes serão os parâmetros diedrais.

Na otimização, é variado o valor da constante K , e o ângulo de fase σ é fixado como 0 ou 180°, uma vez que valores diferentes destes introduzem assimetrias no sistema, o que é indesejado para um campo de forças generalizado [37]. A periodicidade n pode assumir os valores $n = 1, 2, 3, 4$ e/ou 6 para um mesmo diedral, o que será definido pelo usuário; cada valor para multiplicidade que acrescentarmos irá contribuir com um par adicional de variáveis k e σ para a função objetivo. Os termos $n = 1$ e $n = 2$ são úteis para reproduzir mínimos locais e barreiras de diferentes alturas bem como para varrer *scans* em que um ou ambos átomos centrais tem orbitais hibridizados sp^2 . O termo $n = 6$ pode ser útil quando os dois átomos centrais são hidridizados sp^3 . Durante a otimização, podemos controlar ainda parâmetros tais como o valor máximo da constante de força (k_{max}), alternar o valor de *sigma* entre 0 e 180°, ou definir um corte na energia (*cutoff*), priorizando o cálculo em regiões mais relevantes para a otimização. Os valores das superfícies de energia para mecânica quântica e mecânica molecular são comparados visualmente, através de gráficos; os parâmetros vão sendo ajustados e refinados até que encontremos um *fitting* apropriado [38].

Para o cálculo de diedrais a função objetivo a ser otimizada é dada pela diferença no PES

entre os *scans* de mecânica quântica e mecânica molecular, e é dada por

$$\psi_{dihedral} = \sum w_i \left(E^{QM} - E^{MM} - c \right)^2 \quad (14)$$

onde E^{QM} é a energia da conformação por mecânica quântica, E^{MM} é a energia total por mecânica molecular, c é uma constante de normalização que faz $\partial \psi_{dihedral} / \partial c = 0$ ou seja, a média $c = \overline{E^{QM}} - \overline{E^{MM}}$ é ponderada por w_i . A soma é feita sobre todas as conformações realizadas pelo *scan*.

2.4 - Detalhes computacionais

O *ffTK* é escrito na linguagem *tcl*, e apresenta uma série de ferramentas que auxiliam todo o processo de modelagem e otimização seguindo a metodologia e filosofia do CGenFF. Os cálculos quânticos foram realizados utilizando o Gaussian 09, disponível na *facility* computacional GridUNESP. Os cálculos quânticos são feitos no nível de teoria MP2/6-31G(d): MP2 trata-se da teoria de perturbação de segunda ordem de Moller e Plesset no conjunto de base 6-31G(d); a escolha do nível de teoria e do conjunto de base adequado é um requisito essencial para o sucesso do cálculo [33]. Este nível foi escolhido por ter uma aceitação satisfatória com dados experimentais de geometrias de sistemas complexos tais como ácidos nucleicos e açúcares. De fato, as geometrias de açúcar obtidas depois da minimização de energia dos nucleosídeos no nível MP2/6-31G(d) foram comparadas com suas estruturas cristalinas com foco nas regiões mais flexíveis do açúcar. Essa comparação foi realizada para os comprimentos de ligação, ângulos de valência e torções. Os valores obtidos nesse nível de teoria estão em acordo com os dados do cristal, e a maioria dos cálculos estão dentro dos desvios experimentais. Os desvios entre o cristal e a geometria MP2/6-31G(d) para os comprimentos de ligação e ângulos de valência foram menores do que 0,01Å e 2° respectivamente. Para o caso das moléculas orgânicas, geralmente são aceitos desvios de até 0,03Å para as ligações e de 3° para ângulos de valência em relação aos dados alvo obtidos por mecânica quântica [20].

O processo de obtenção de parâmetros pelo *fftk* é regido, basicamente, pela otimização de uma função objetivo. Cargas parciais, ligações, ângulos, diedrais e suas respectivas constantes de força são obtidos através da otimização de suas correspondentes funções objetivo. Para fazer essas otimizações, o *ffTK* utiliza dois métodos: *downhill* e *simulated annealing*. O *downhill* [34, 35] é um

método mais lento, que possibilita a otimização de uma função objetivo não linear em espaços multidimensionais sem qualquer informação sobre as derivadas; exige um número significativo de avaliações da função, e pode potencialmente perder um mínimo global em favor de um local. O *simulated annealing*, fundamentado numa analogia com a termodinâmica, é um método probabilístico proposto para explorar o espaço de parâmetros mais efetivamente, em busca de um mínimo global em uma função objetivo que possua vários mínimos locais. Sendo assim, é interessante fazermos uma sucessão entre os dois métodos de modo a aumentar a convergência do processo de otimização.

Depois de todos esses procedimentos obtemos todos os parâmetros necessários para descrever nossa molécula. No entanto, devemos primeiro validar nosso modelo. Fizemos, então, simulações das moléculas em água. As simulações foram realizadas com o pacote de programas NAMD [36]. O modelo utilizado para a água foi o TIP3P [37] e para o soluto foi utilizado, obviamente, o campo de forças CGenFF. Foram criadas caixas de simulação cúbicas de 4nm de aresta contendo 6000 moléculas de água e 1 molécula de soluto. Foram utilizadas condições periódicas de contorno. Cada caixa passou por um processo de minimização por 100000 passos de gradiente conjugado. Em seguida foram realizadas simulações de Dinâmica Molecular por 100 ns com passos de 2 fs. Essas simulações foram realizadas no ensemble canônico (NPT) com a temperatura e pressão mantidas constantes em 298 K e 1 atm pelo método de Langevin. As interações de van der Waals foram truncadas em 12Å. As interações eletrostáticas foram tratadas utilizando o algoritmo PME (“Particle Mesh Ewald”) [39].

Uma vez feita a simulação iremos investigar o comportamento dos diedrais que foram escaneados durante o processo de modelagem a fim de verificar se as posições e conformações visitadas durante a simulação condizem com os ângulos que fizeram parte do *scan*.

Capítulo 3

Resultados e discussões

Apresentaremos aqui o processo de modelagem detalhado da quercetina. Para tal, modelamos primeiramente o chromone e o di-hidroxibenzeno, que, juntos, constituirão a quercetina e esta, por sua vez, servirá para a modelagem de todos os demais flavonoides glicosilados. Uma vez modeladas, faremos a simulação de todas essas moléculas em água, a fim de validar os modelos e parâmetros obtidos. Para a construção e parametrização dessas moléculas, assim como para qualquer outra molécula nova, devemos usar parâmetros já existentes no campo de força para moléculas previamente parametrizadas. Muitas vezes, usaremos fragmentos de moléculas diferentes para criar nossa molécula de interesse, de modo que os parâmetros a serem modelados serão apenas aqueles que dizem respeito à ligação desses fragmentos.

O chromone (figura 3.1) é um derivado do benzopirano com um substituinte ceto em um anel de pirano e, uma vez parametrizado, poderá servir como “base” não só para a quercetina mas também para a modelagem de outros compostos que tenham parte de sua estrutura similar à do chromone.

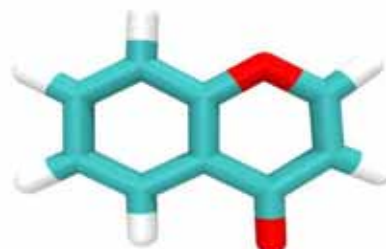
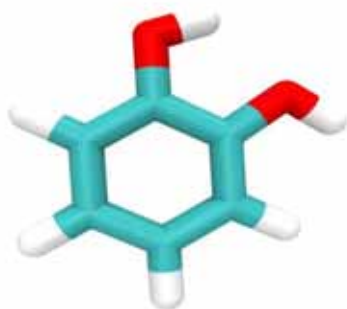


Figura 3.1: Estrutura química do chromone



O 1,2-di-hidroxibenzeno (figura 3.2) consiste basicamente da adição de duas hidroxilas a um anel benzênico. Mostraremos, detalhadamente, o procedimento de parametrização do chromone e do di-hidroxibenzeno e posteriormente, o processo de junção desses dois compostos para formar a quercetina.

Figura 3.2: Estrutura química do 1,2-di-hidroxibenzeno

3.1- Modelagem do chromone

3.1.1 – Preparação do sistema

Na tabela 3.1 mostramos os nomes e os tipos de átomos do chromone; a nomenclatura apresentada na tabela é mostrada na figura 3.3:



Figura 3.3: Nomenclatura dos átomos do chromone.

Tabela 3.1: Tipos de átomos do e cargas iniciais do chromone. As cargas dos carbonos C1, C2, C3, C4, H1, H2, H3 e H4 são pré definidas pela metodologia do CGenFF. As demais cargas são inicialmente atribuídas como 0 porque ainda serão submetidas a um processo de cálculo e otimização.

Átomo	Tipo de átomo	Carga inicial (e)	Descrição
C1, C2, C3, C4	CG2R61	-0,115	Carbono aromático
H1, H2, H3, H4	HGR61	0,115	Hidrogênio aromático
C7	CG2R63	0,0	Carbono aromático ligado a carbonila
C5, C6, C8, C9	CG2R62	0,0	Carbono aromático para anéis contendo carbonila
H5, H6	HGR62	0,0	Hidrogênio apolar, de anel de 6 carbonos, ligado a carbono adjacente ao heteroatomo
O1	OG3R60	0,0	Oxigênio de éter ou ester cíclico de 6 membros
O2	OG2D4	0,0	Oxigênio de carbonila aromática (anel de 6 membros)

Com os arquivos iniciais construídos, iniciamos o processo de modelagem criando um arquivo com todos os parâmetros necessários para modelar o chromone e que ainda não constam no campo de força CGenFF. O fftk possui ferramentas capazes de identificar os parâmetros da molécula que ainda não constam no campo de forças e, a partir disso, criar um arquivo apenas com esses parâmetros, que são aqueles que teremos que desenvolver.

3.1.2 - Otimização da geometria

Para desenvolver os parâmetros que descrevem o chromone, devemos utilizar como ponto de partida uma estrutura que represente o mínimo de energia, de preferência global. Assim, executamos uma otimização de geometria utilizando o software Gaussian e o nível de teoria MP2/6-31G*, como descrito nos detalhes computacionais. Na figura 3.4 apresentamos a superposição da estrutura inicial com a estrutura otimizada:

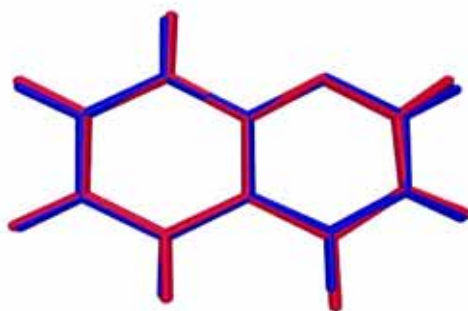


Figura 3.4: Sobreposição da estrutura otimizada do chromone (em vermelho) com a estrutura criada pelo *Molefacture* (em azul).

O chromone apresenta uma estrutura de anel com ligações duplas rígidas, que não permitem uma grande liberdade dos átomos que constituem a molécula, de modo que a otimização de geometria não apresenta grandes mudanças em relação à estrutura inicial de entrada.

3.1.3 – Otimização das cargas

A otimização das cargas parciais de cada sítio é iniciada com o posicionamento de uma molécula de água na geometria TIP3P em cada sítio que pode realizar interação de hidrogênio com esse solvente. Na figura 3.5 vemos essa distribuição:

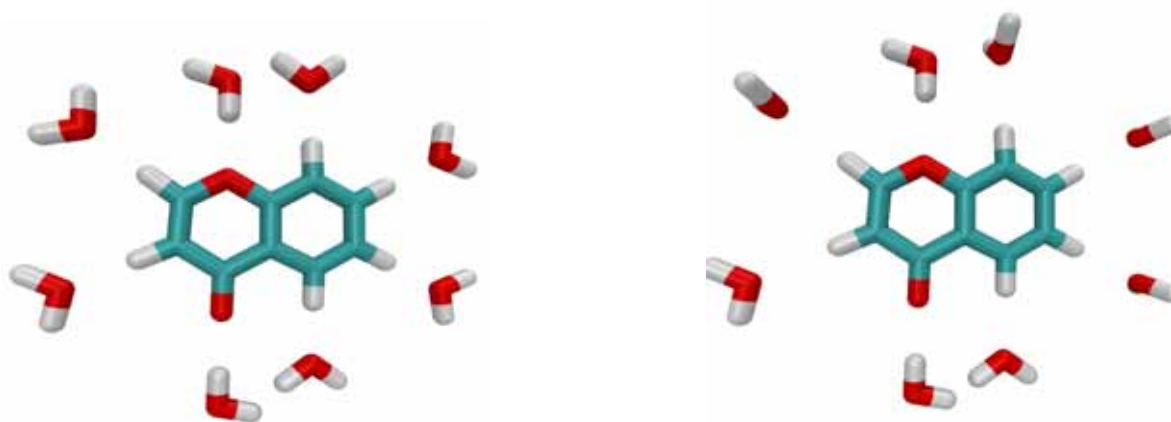


Figura 3.5: Complexos formados para o cálculo da energia de interação entre a molécula de interesse e moléculas de água. Na figura da esquerda, vemos a conformação inicial, quando o complexo é construído e na figura da direita, a conformação após a interação,. A partir disso, podemos fazer o cálculo das energias e das distâncias de interação entre o composto e moléculas de água no modelo TIP3P individuais.

Para o caso do chromone, foi formado um complexo com 8 diferentes monoidratos: 6 para os átomos de hidrogênio e 2 para os átomos de oxigênio. Para cada um desses monoidratos, é criado um correspondente arquivo de entrada para o Gaussian. São gerados também três arquivos para cálculo de *single point calculation*: dois no nível de teoria HF/6–31G(d), uma para a água e outro para o chromone, e um no nível MP2/6–31G(d) para obtenção do momento de dipolo do chromone.

Com os arquivos de saída produzidos pelo Gaussian para cada um dos monoidratos, fizemos a otimização das cargas utilizando *downhill*, descrito na sessão de métodos. Os átomos cujas cargas já foram estabelecidas (para o caso do chromone, os carbonos e hidrogênios aromáticos, que terão carga -0,115e e 0,115e respectivamente) não farão parte do processo de otimização. Para os demais átomos, devemos atribuir alguns valores iniciais para as cargas. Como dito anteriormente, se fizermos boas estimativas iniciais, serão necessários menos passos de otimização. Tomamos então os valores obtidos pelo Gaussian para a cargas Mulliken durante a otimização da geometria e permitimos que essa carga inicial varie com $\Delta q = \pm 0,2e$. Feito isso, corremos passos de otimização até a convergência dos valores das carga. Os valores finais obtidos para as cargas do chromone - e que, a partir de agora, deverão constar no arquivo *.psf* - são mostrados na tabela 3.2:

Tabela 3.2: Valores iniciais estimados para as cargas e os valores obtidos após a otimização.

Átomos com cargas a serem otimizadas	Valores inicialmente atribuídos (e) (vindos da otimização de geometria)	Valores finais obtidos por otimização (e)
C7	0,604	0,418
C8	-0,365	-0,490
C9	0,199	0,254
H5	0,241	0,173
H6	0,239	0,196
O1	-0,685	-0,400
O2	-0,616	-0,468

A função objetivo para obtenção das cargas é dada em função do momento de dipolo, e das interações ótimas entre as moléculas de água os átomos da molécula de interesse. As cargas finais são encontradas quando há a convergência dessa função objetivo. Podemos ver a convergência da função objetivo a partir o gráfico mostrado na figura 3.6.

Figura 3.6: Convergência da função objetivo. É mostrada a convergência em função da energia do sistema, da distância de interação entre as moléculas de água e o chromone, do momento e dipolo e a função objetivo total, dada em função os termos anteriores.

Podemos notar que há a convergência de todos os termos da função objetivo e, conseqüentemente, da função total. Com isso, podemos concluir que os valores obtidos para as cargas são adequados.

3.1.4 – Otimização das ligações, ângulos e respectivas constantes de força

Após a obtenção das cargas, otimizaremos as ligações, ângulos e as respectivas constantes de força tendo como alvo dados de mecânica quântica vindos da hessiana calculada no nível de teoria MP2/6–31G(d). A partir dos arquivos *.pdb* (da geometria otimizada) e *.psf* (que deve conter os novos valores obtidos para as cargas) criamos um arquivo de entrada para o Gaussian para o cálculo da matriz hessiana, cujos autovalores estão relacionados com as frequências vibracionais dos átomos. Com o arquivo de saída do Gaussian, fazemos a otimização das ligações, ângulos e correspondentes constantes de força para reproduzir o espectro vibracional quântico da molécula. Otimizamos até que haja a convergência da função objetivo. Na tabela 3.3 e 3.4 mostramos os parâmetros que foram obtidos para o chromone:

Tabela 3.3: Valores obtidos para comprimentos das ligações químicas e as correspondentes constantes de força.

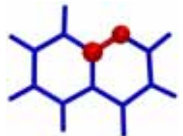
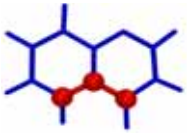
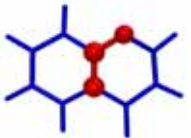
	Ligação	Comprimento da ligação (Å)	Constante de força (Kcal/mol/Å²)
	CG2R61-CG2R62	1,187	286,955
	CG2R62-OG3R60	1,329	214,92

Tabela 3.4: Valores obtidos para os ângulos (em graus) e as correspondentes constantes de força.

	Ângulo	θ (°)	Constante de força (Kcal/mol/ θ^2)
	CG2R61-CG2R62-CG2R62	117,098	132,710
	CG2R61-CG2R62-OG3R60	107,241	201,071
	CG2R61-CG2R61-CG2R62	115,203	52,092
	CG2R61-CG2R6-CG2R63	114,181	178,345
	CG2R62-CG2R62-OG3R60	123,438	105,391
	CG2R62-CG2R63-CG2R62	111,805	204,241
	CG2R62-OG3R60-CG2R62	119,768	115,232

	CG2R62-CG2R61-HGR61	117,489	45,695
	OG3R60-CG2R62-HGR62	101,621	120,213

3.1.5 – Otimização dos diedrais

Concluimos o processo de modelagem com a otimização dos diedrais. Os parâmetros são obtidos através dos PES (*potencial energy surface*) gerados pelos scans dos diedros de interesse no nível de teoria MP2/6-31G(d). Faremos os *scans* de energia dos parâmetros a serem otimizados, excluindo os diedrais cujas terminações são átomos de hidrogênio e diedrais que são redundantes. O diedral descrito pela sequência de átomos CG2R61-CG2R61-CG2R61-CG2R62 compreende dois diedrais diferentes, como os mostrados figura 3.7, e, assim, poderíamos pensar que devemos fazer a otimização dos dois. No entanto, otimizamos apenas um deles. Além disso, diedrais diferentes, como os da figura 3.8 podem ser otimizados pelo *scan* de um único diedral, desde que o cálculo seja feito em torno da mesma ligação química.

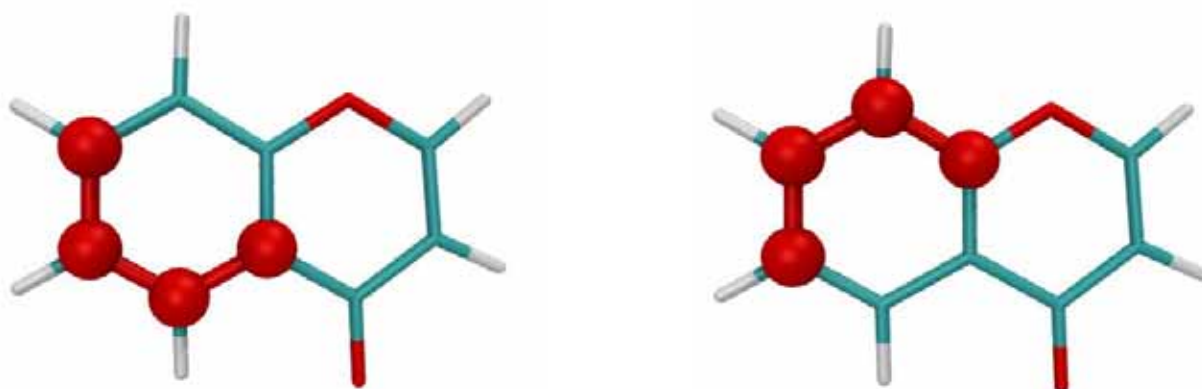


Figura 3.7: Diedrais descritos pela sequência de átomos CG2R61-CG2R61-CG2R61-CG2R62.

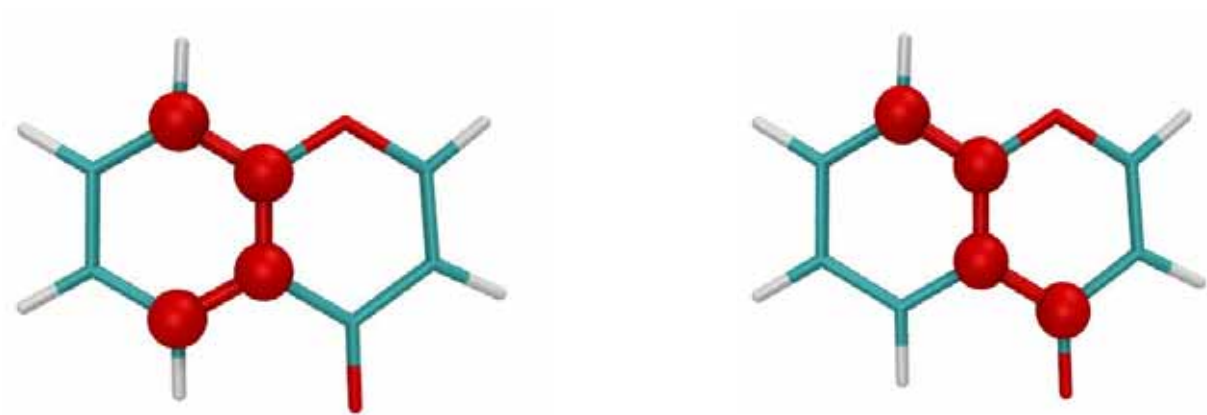


Figura 3.8: Diedrais com sequência de átomos diferentes, mas descrevendo uma mesma ligação química.

Figura 3.9: Gráfico do PES obtido por mecânica quântica e mecânica molecular em função das conformações. O valor obtido para o RMSE foi 1,306Kcal/mol.

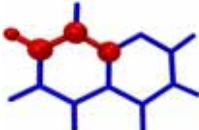
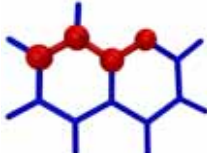
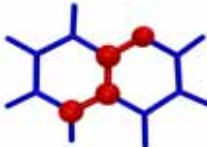
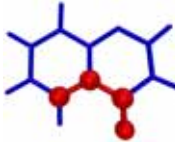
Após fazer os cálculos dos *scans* no Gaussian, faremos a otimização dos diedrais. Inicialmente, todas as multiplicidades terão valor 1, e o K_{max} será 10. Realizamos primeiramente um *simulated annealing* para minimizar as diferenças entre as superfícies de energia por mecânica quântica e molecular. A análise visual do PES após o primeiro passo de *simulated annealing* é apresentado na figura 3.9

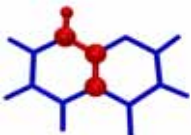
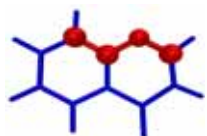
Podemos notar que muitos detalhes complexos sobre os mínimos de energia estão abaixo de 1Kcal/mol, de modo que podemos priorizar essas regiões, mais relevantes para a otimização. Após alguns ciclos de otimização, onde ajustamos a multiplicidade e o número de termos que descrevem cada diedral, em *simulated annealing* e, em seguida, *downhill*, para um refinamento final, foi produzido o PES mostrado na figura 3.10:

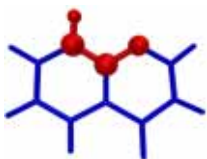
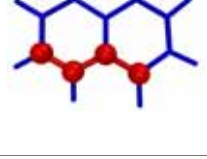
Figura 3.10: Gráfico do PES obtido por mecânica quântica e mecânica molecular em função dos valores de K obtidos após a otimização total, usando primeiramente *simulated annealing* e, para um maior refinamento, *downhill*. O valor obtido para o RMSE foi 0,075Kcal/mol.

A tabela 3.5 mostra os diedrais que foram otimizados e os respectivos valores obtidos para as constantes de força, multiplicidades e ângulos de fase.

Tabela 3.5: Valores finais para os parâmetros modelados do chromone. São apresentados a sequência de átomos que compõem o diedro modelado, e, os parâmetros finais obtidos. O termo do campo de forças que descreve as interações de ângulos diedros é $V_{dih} = \sum k (1 + \cos(n \theta + \delta))$, onde k está em $kcal/mol$, θ é o ângulo diedro em graus e δ a fase, que terá o valor 0 ou 180°.

	Diedral Modelado	K (Kcal/mol)	n	$\delta(^{\circ})$
	CG2R61-CG2R62-CG2R62-CG2R63	6,935	1	0,0
	CG2R62-CG2R61-CG2R61-HGR61	6,746	1	0,0
	CG2R61-CG2R61-CG2R62-OG3R60	6,983	1	0,0
	OG3R60-CG2R62-CG2R62-CG2R61	6,466	1	0,0
	OG2D4-CG2R63-CG2R62-CG2R61	6,682	1	180,0
	CG2R62-OG3R60-CG2R62-CG2R62	6,987	1	180,0

	OG3R60-CG2R62-CG2R62-CG2R63	6,992	1	180,0
	CG2R62-CG2R63-CG2R62-HGR62	2,076	1	180,0
	CG2R61-CG2R61-CG2R61- CG2R62	3,392	1	180,0
	HGR62-CG2R62-CG2R62-OG3R60	5,455	1	0,0
	CG2R61-CG2R62-CG2R63-CG2R62	4,993	1	0,0
	HGR61-CG2R61-CG2R62-CG2R62	1,568	1	0,0
	CG2R62-CG2R63-CG2R62-CG2R62	6,999	1	180,0
	HGR61-CG2R61-CG2R62-CG2R63	6,995	1	180,0
	CG2R61-CG2R62-OG3R60-CG2R62	3,564	1	180,0

	HGR61- CG2R61-CG2R62-OG3R60	6,515	1	180,0
	HGR62-CG2R62-OG3R60-CG2R62	5,431	1	180,0
	CG2R61-CG2R61-CG2R62-CG2R62	7,000	1	180,0
	CG2R61-CG2R62-CG2R62-CG2R61	0,286	1	0,0
	CG2R61-CG2R61-CG2R62-CG2R63	6,951	1	0,0

Após a otimização dos diedrais, terminamos o processo de parametrização desta molécula. Apresentamos com detalhes o processo de obtenção para os parâmetros do chromone para o entendimento de como se dá esse processo de modelagem seguindo a metodologia do CGenFF. O chromone será a base para a grande maioria dos flavonoides que pretendemos tratar, por esta razão, sua parametrização exige a obtenção de tantos ângulos, ligações e, de modo especial, de diedrais. Quando a modelagem envolve apenas a junção de moléculas já modeladas, o número de parâmetros é bastante reduzido, como veremos nas seções posteriores.

3.1.6 – Simulação da molécula em água

Depois de otimizados os diedrais, fazemos uma simulação da molécula em água. Apresentamos na figura 3.11 o gráfico da energia potencial total do sistema para verificar a estabilidade da simulação.

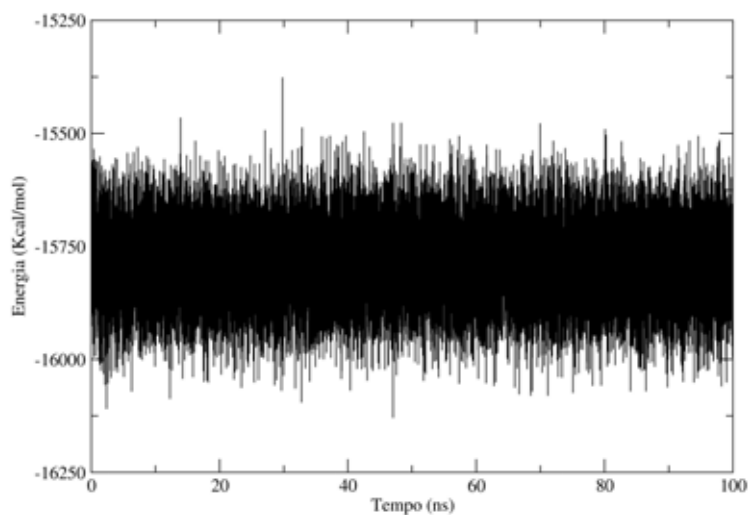
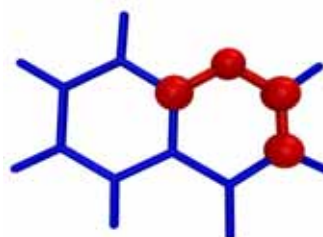
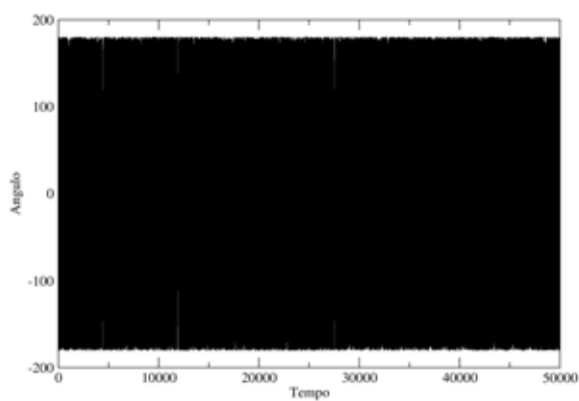


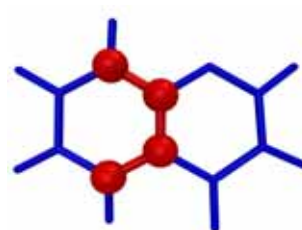
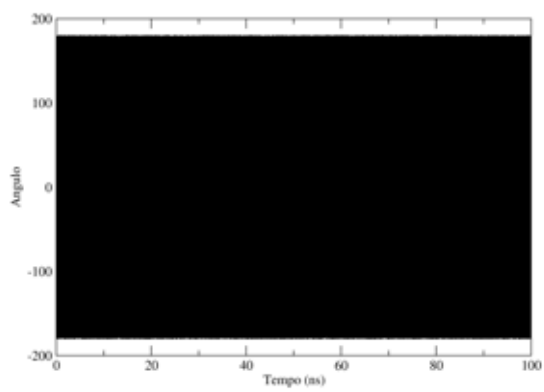
Figura 3.11: Evolução temporal da energia total do sistema.

Analizamos a variação dos ângulos diedrais que foram escaneados e construímos um histograma mostrando a frequência com que tais ângulos são visitados durante a simulação. Comparamos esses histogramas com os gráficos da energia conformacional do diedral modelado em função do ângulo diedral.

A) CG2R62 – CG2R62 – OG3R60 – CG2R62



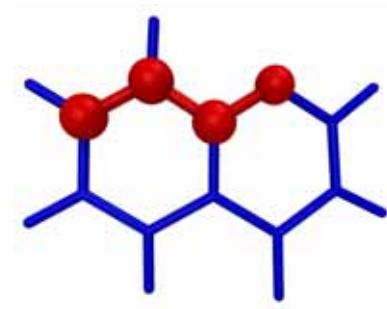
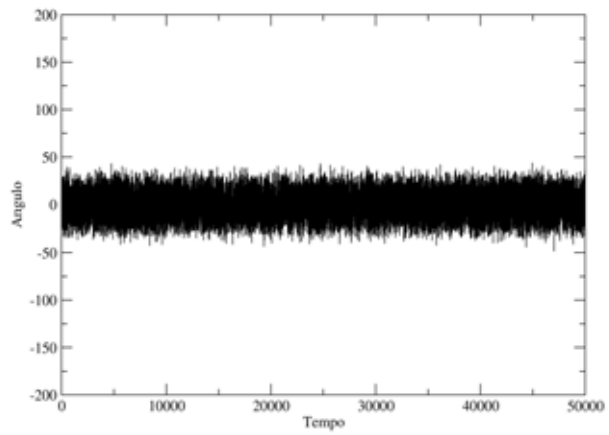
B) CG2R61 – CG2R62 – CG2R62 – CG2R61



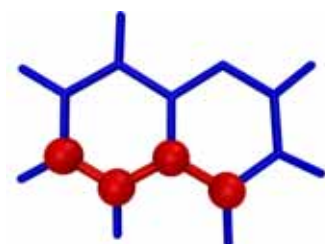
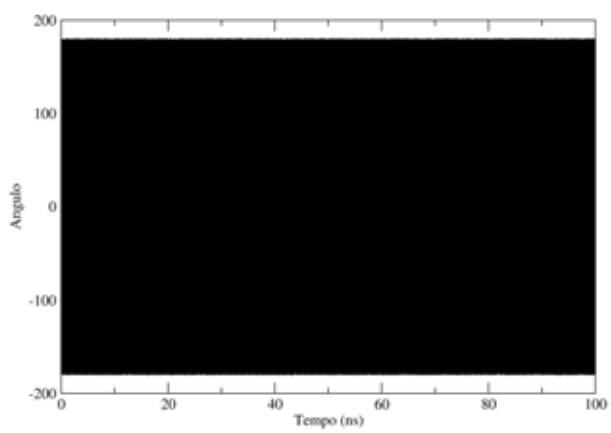
53

C)

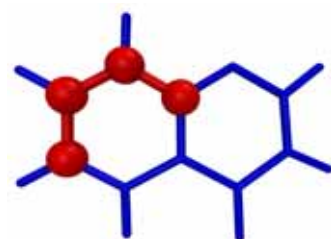
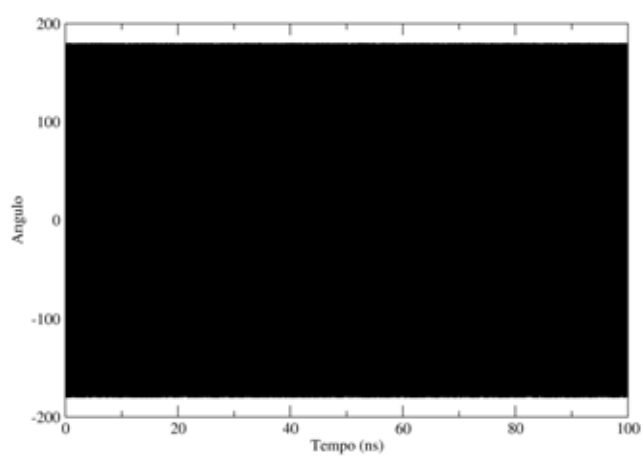
CG2R61 – CG2R61 – CG2R62 – OG3R60



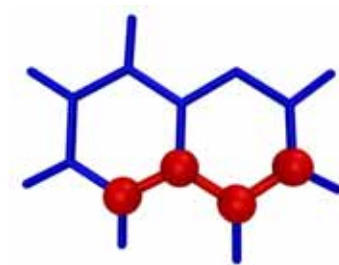
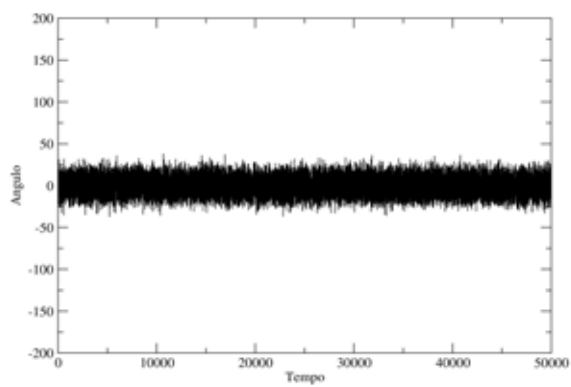
D) CG2R61 – CG2R61 – CG2R62 – CG2R63



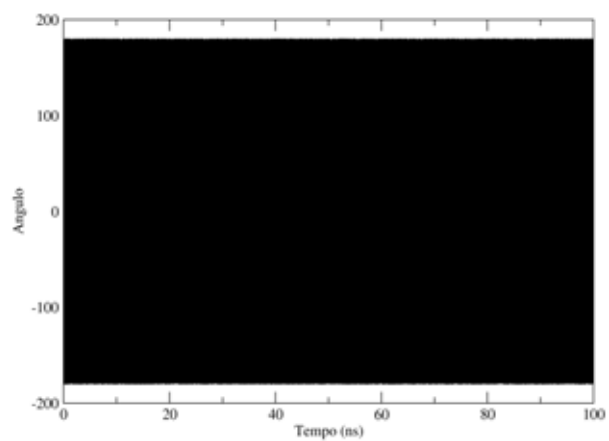
E) CG2R61 – CG2R61 – CG2R61 – CG2R62



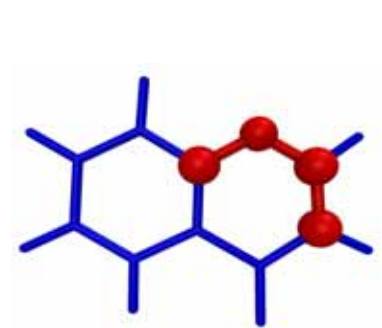
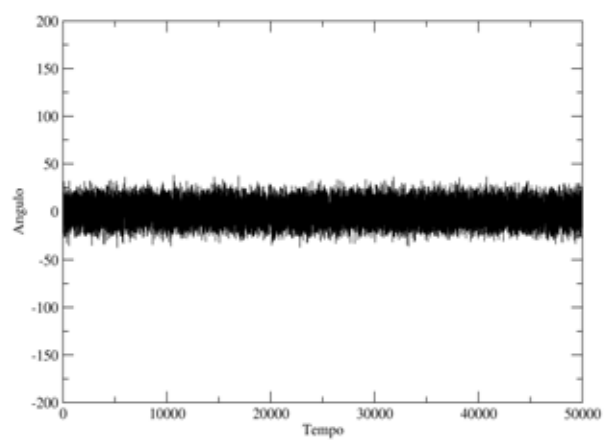
F) CG2R61 – CG2R62 – CG2R63 – CG2R62



G) CG2R63 – CG2R62 – CG2R62 – OG3R60



H) CG2R62 – CG2R62 – OG3R60 – CG2R62



I) CG2R62 – CG2R63 – CG2R62 – CG2R62

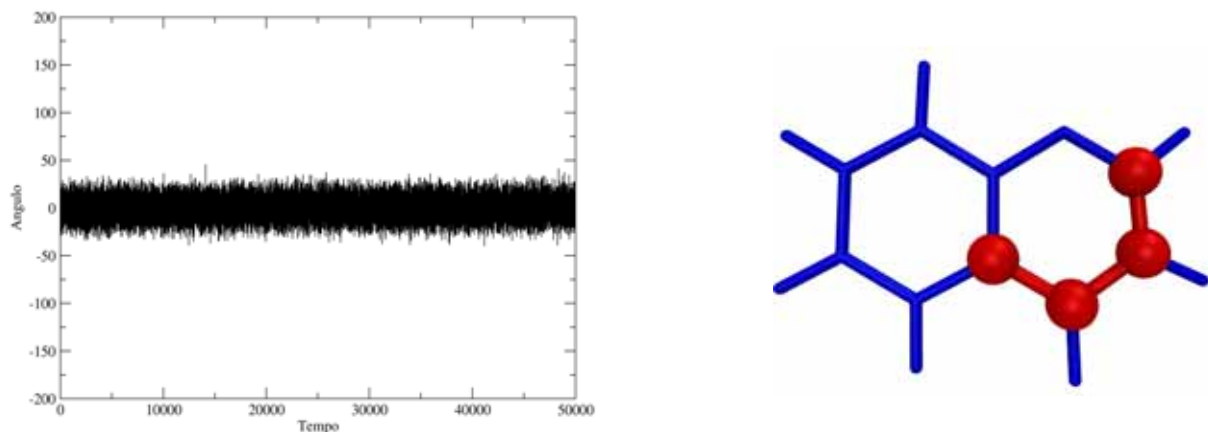


Figura 3.12: Comportamento dos diedrais em função do tempo e histogramas da frequência de acesso aos diedrais em função do ângulo e gráficos da energia do *scan* dos diedrais.

O diedral mostrado na figura A faz parte do anel, a ligação descrita é bastante rígida, portanto, não esperamos que haja uma ampla faixa de ângulos a serem visitados. De fato, valores de energia menores que a energia térmica, 0,5 Kcal/mol abrangem uma faixa de ângulos entre aproximadamente -11° e 11° . No entanto, de acordo com o histograma, durante a simulação este diedral visita com alta frequência ângulos que estão dentro de uma faixa entre aproximadamente -30° e 30° . Podemos associar isso ao fato de, durante a simulação, as moléculas de água interagem com o oxigênio que constitui o diedral. O oxigênio poderá formar ligações de hidrogênio com os hidrogênios da molécula de água e essas interações podem afetar o diedral, fazendo com que ele visite uma maior faixa de ângulos. Os demais diedrais descrevem ligações no anel, de modo que

realmente esperamos que não haja muita variação no ângulo. Para valores de energia menores que 0,5 Kcal/mol, a energia térmica, o ângulo varia entre aproximadamente -12° e 12° , intervalo que compreende os ângulos mais visitados durante a simulação, como podemos ver no histograma; ângulos fora deste intervalo, cujo *scan* é descrito por energias maiores que 0,5 Kcal/mol, são menos visitados. De modo geral, notamos que os ângulos mais visitados são aqueles que apresentam menor energia. Como os dados da simulação são condizentes com os dados da modelagem, podemos dizer que os diedrais – e demais parâmetros – tiveram uma modelagem adequada.

Agora que temos o chromone modelado, vamos modelar o 1,2-dihidroxibenzeno, a fim de montarmos a quercetina. Os parâmetros obtidos para o chromone contribuem para a modelagem das cumarinas, apresentadas no Anexo A.

3.2 - Modelagem do 1,2-dihidroxibenzeno

Mostraremos a seguir, os dados obtidos pela otimização do 1,2-di-hidroxibenzeno, que consiste na adição de uma hidroxila ao fenol (figura 3.13). Uma vez que os parâmetros concernentes ao fenol já constam no campo de força, iremos otimizar apenas aqueles que dizem respeito à adição desta nova hidroxila. A otimização dessa molécula é necessária pra a posterior construção e parametrização da quercetina.



Figura 3.13: Estruturas química do fenol e do 1,2-dihidroxibenzeno, respectivamente.

3.2.1 – Preparação do sistema

A figura 3.14 e a tabela 3.6 mostram a nomenclatura, tipos de átomos e cargas iniciais dos átomos do 1,2-dihidroxibenzeno:

Tabela 3.6: Tipo dos átomos do 1,2-dihidroxibenzeno e cargas iniciais.

Átomo	Tipo de Átomo	Carga inicial (e)	Descrição
C1, C2, C3, C4	CG2R61	-0,115	Carbono aromático
H1, H2, H3, H4	HGR61	0,115	Hidrogênio aromático
H5, H6	HGP1	0,0	Hidrogênio polar
O1, O2	OG311	0,0	Oxigênio de hidroxila

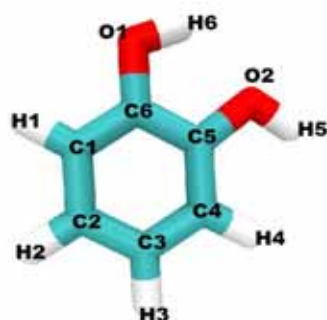


Figura 3.14 – Nomenclatura dos átomos do 1,2-dihidroxibenzeno

3.2.2 - Otimização de Geometria

Assim como para o chromone, e para todas as demais moléculas que iremos parametrizar, a otimização de geometria ocorre no nível de geometria MP2/6-31G(d):

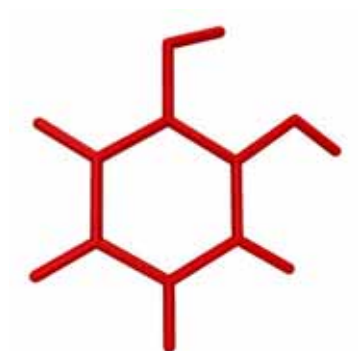
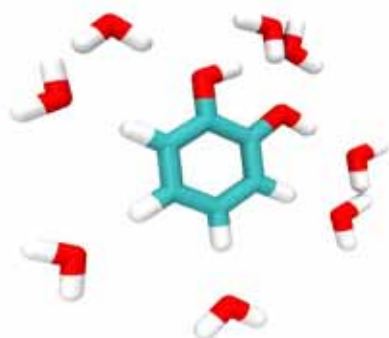


Figura 3.15 Estrutura otimizada do 1,2-di-hidroxibenzeno. Não se nota praticamente nenhuma diferença entre a estrutura otimizada e a projetada no *Molefactory*.

3.2.3 - Otimização das cargas

São formados 8 monoidratos: 6 para os átomos de hidrogênio e dois para os oxigênios. As conformações e posições das moléculas de água, antes e depois da otimização, são apresentadas na figura 3.16:

A)



B)

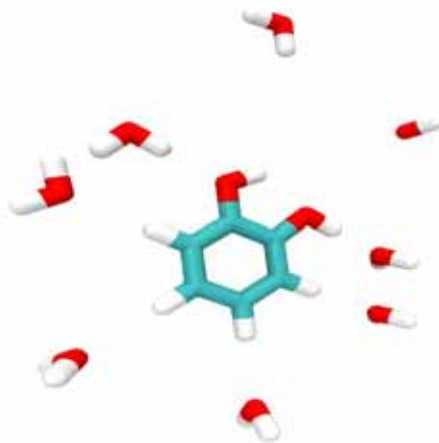


Figura 3.16: Conformações inicial (A) e final (B) dos complexos molécula-água.

A figura 3.17 nos mostra a convergência da função objetivo; na tabela 3.7, mostramos as cargas finais otimizadas:

Figura 3.17: Convergência da função objetivo para otimização das cargas

Tabela 3.7: Cargas otimizadas para o 1,2-hidroxibenzeno.

Átomos com cargas a serem otimizadas	Valores inicialmente atribuídos (e) (vindos da otimização de geometria)	Valores finais obtidos por otimização (e)
H6	0,465	0,438
H7	0,484	0,438
O1	-0,600	-0,574
O2	-0,777	-0,574

Não é necessária a otimização das ligações químicas, ângulos e correspondentes constantes de força, pois, para esta molécula, todos esses parâmetros já constam no campo de forças.

3.2.4 - Otimização dos diedrais

Para esta molécula, apenas uma diedral deverá ser otimizado, que é aquele referente à ligação de uma segunda hidroxila no fenol. Os valores encontrados são mostrados na tabela 3.8, e a figura 3.18 nos mostra a perfil de energia em função das conformações do diedral:

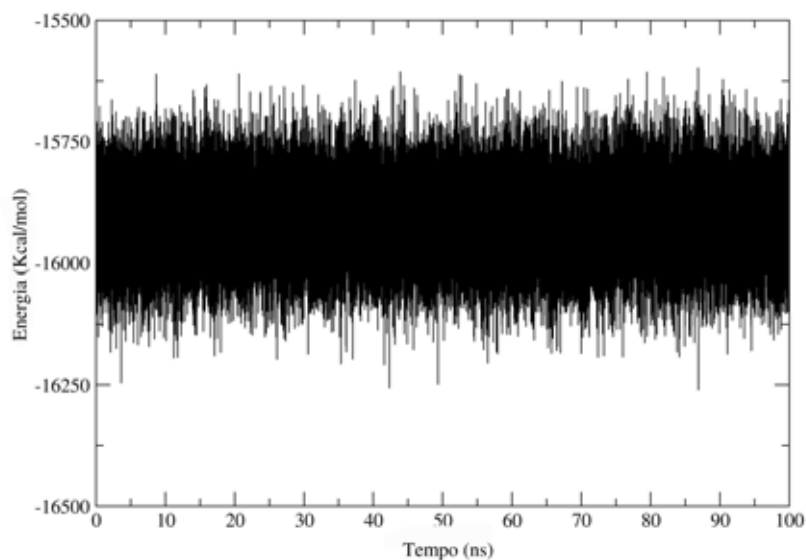
Figura 3.18: Gráfico do PES obtido por mecânica quântica e mecânica molecular em função das conformações obtidas na otimização do 1,2-dihidroxibenzeno. Os valores obtidos para o RMSE foi 0,019Kcal/mol.

Tabela 3.8: Diedrais otimizados para o 1,2-dihidroxibenzeno

	Diedral Modelado	K (Kcal/mol)	n	$\delta(^{\circ})$
	CG2R61-OG311-OG311-CG2R61	3,00	1	180,0

3.2.5 - Simulação do 1,2-dihidroxibenzeno em água

Através do gráfico da energia total (figura 3.19) podemos verificar a estabilidade da dinâmica:



Figura

3.19: Evolução temporal da energia total do sistema em função do tempo de simulação.

Analisando a evolução temporal do diedral da molécula e interação com a água, e comparando com a energia obtida no processo de modelagem, temos:

OG311 – CG2R61 – CG2R61 – OG311

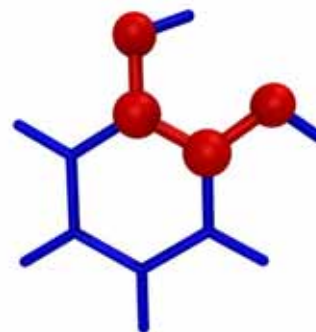
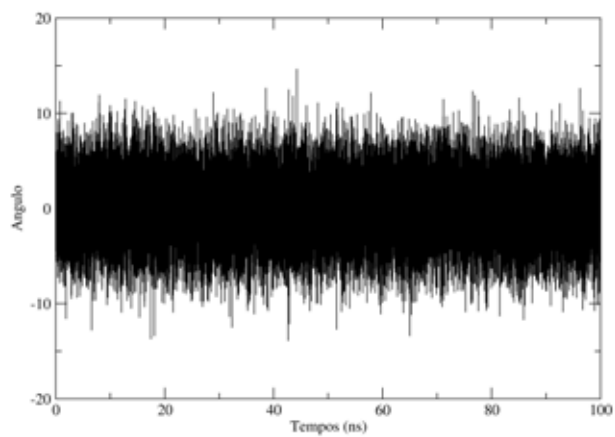


Figura 3.20: Histograma da frequência de acesso aos diedrais em função do ângulo e gráficos da energia do *scan* dos diedrais.

Mais uma vez podemos verificar que os ângulos mais visitados são aqueles que apresentam menor energia no processo de otimização, como esperávamos obter. O intervalo entre -12° e 12° é Uma vez que temos todos os parâmetros que descrevem o chromone e o 1,2-dihidroxibenzeno, iremos, agora, unir essas duas moléculas para formar a quercetina, nossa molécula de interesse.

3.3 - Construção e modelagem da quercetina

3.3.1 – Preparação do sistema

A quercetina ser construída a partir da junção do chromone com o 1,2-dihidroxibenzeno; a nomenclatura e os tipos de átomos são mostrados na figura 3.19 e na tabela 3.9:



Figura 3.21: Nomenclatura dos átomos da quercetina

Tabela 3.9: Tipos de átomos e cargas iniciais da quercetina

Átomo	Tipo de Átomo	Carga inicial (<i>e</i>)	Descrição
H1, H2, H3	HGP1	0,0	Hidrogênio polar
H4		0,484	
H5		0,465	
H6, H7, H8, H9, H10	HGR61	0,115	Hidrogênio aromático
C1, C3, C11, C12, C14, C15	CG2R61	-0,115	Carbono aromático
C5	CG2R62	-0,09	Carbono aromático para anéis contendo carbonila
C6		0,407	
C8		0,0	
C7	CG2R63	0,0	Carbono aromático de carbonila
C9, C10	CG2R67	0,0	Carbono aromático de bifenil
O1, O2, O5, O6, O7	OG311	0,0	Oxigênio de hidroxila
O3	OG3R60	-0,4	Oxigênio de éter ou ester cíclico de 6 membros
O4	OG2D4	-0,616	Oxigênio de carbonila aromática (anel de 6 membros)

3.3.2 - Otimização da geometria:

Mais uma vez a geometria da molécula é otimizada no nível de teoria MP2-6-31G(d). A estrutura otimizada é mostrada na figura 3.22:

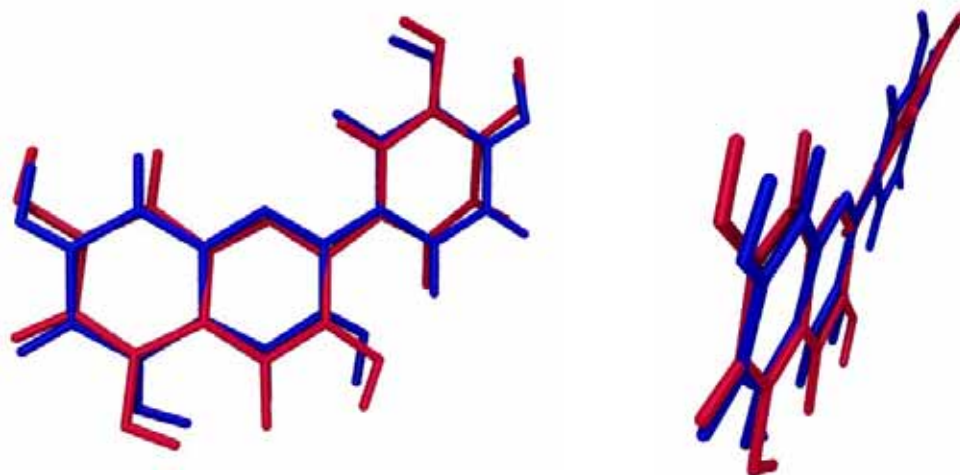


Figura 3.22: Estrutura otimizada da quercetina vista sob duas perspectivas. Em vermelho, estrutura otimizada e, em azul, estrutura química projetada pelo *Molefactory*.

3.3.3 - Otimização das cargas

Para a quercetina, são formados 16 monoidratos, com as moléculas de água interagindo com os hidrogênios e oxigênios da quercetina. As conformações inicial e final são mostradas na figura 3.23:

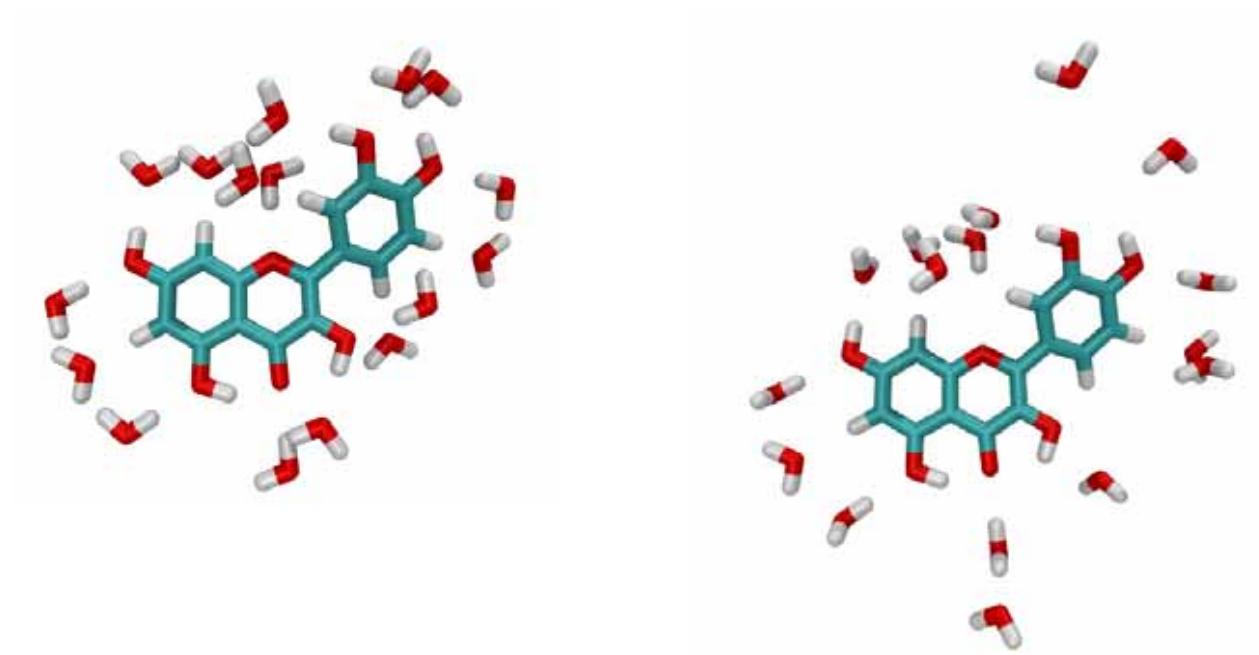


Figura 3.23: Conformações inicial e final, respectivamente, dos complexos molécula-água. As cargas são otimizadas através da convergência da função objetivo. Como se pode ver na figura 3.24, esta convergência ocorre depois de cerca de 150 passos de otimização:

Figura 3.24: Convergência da função objetivo

Tendo-se atingido a convergência, os valores finais para as cargas são obtidos. Podemos ver estes valores na tabela 3.10:

Tabela 3.10: Valores inicialmente atribuídos para as cargas e os obtidos após a otimização, respectivamente.

Átomos com cargas a serem otimizadas	Valores inicialmente atribuídos (e) (vindos da otimização de geometria)	Valores finais obtidos por otimização (e)
H1	0,464	0,451
H2	0,532	0,555
H3	0,501	0,525
C8	0,264	0,113
C9	0,381	0,163
C10	-0,061	-0,048
O1	-0,749	-0,641
O2	-0,786	-0,718
O5	-0,789	-0,564
O6	-0,769	-0,574
O7	-0,800	-0,574

3.3.4 - Otimização das ligações químicas e respectivas constantes de força:

Os parâmetros a serem obtidos para ligações e ângulos são aqueles que dizem respeito à adição das hidroxilas ao chromone e aos átomos envolvidos na emenda com o 1,2-dihidroxibenzeno.

Tabela 3.11: Valores obtidos para comprimentos das ligações químicas e as correspondentes constantes de força.

	Ligação	Comprimento da ligação (Å)	Constante de força (Kcal/mol/Å ²)
	CG2R62-CG2R67	1.283	369.272

	CG2R62-OG311	1.282	381.492
	CG2R67-OG3R60	1.308	274.455

Tabela 3.12: Valores obtidos para ângulos e as correspondentes constantes de força.

	Ângulo	θ (°)	Constante de força (Kcal/mol/ θ^2)
	CG2R63-CG2R62-OG311	115,323	45,143
	CG2R63-CG2R62-CG2R67	118,777	136,660
	CG2R62-OG311-HGP1	107,437	125,521
	CG2R62-CG2R67-OG3R60	122,463	4,628
	CG2R62- CG2R67-CG2R67	126,993	53,668

	CG2R67-OG3R60-CG2R62	123,610	93,224
	CG2R67-CG2R62-OG311	115,107	56,525
	CG2R62-CG2R61-OG311	122,718	119,137
	OG3R60-CG2R67-CG2R67	116,870	58,281

3.3.5 - Otimização dos diedrais:

Os diedrais a serem modelados para a quercetina são apenas aqueles que descrevem a emenda entre o chromone e o 1,2-dihidroxibenzeno. Na figura 3.25 temos um gráfico da energia obtida no *scan* em função das conformações desses diedrais:

Figura 3.25: Gráfico do PES obtido por mecânica quântica e mecânica molecular.

Os parâmetros obtidos na otimização, usando os *scans* calculados no Gaussian são mostrados na tabela 3.13:

Tabela 3.13: Parâmetros obtidos para os diedrais modelados para a quercetina.

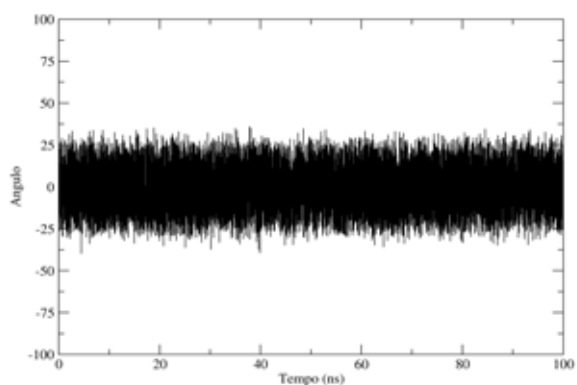
	Diedral Modelado	K (Kcal/mol)	n	δ (°)
	OG311-CG2R61-CG2R62-CG2R63	6.9950	1	180
	CG2R63-CG2R62-CG2R67-CG2R67	3,941	2	180,0
	CG2R62-CG2R67-CG2R67-CG2R61	1,137	2	180,0
	OG2D4-CG2R63-CG2R62-CG2R67	1,000	2	180,0
	CG2R67-CG2R67-OG3R60-CG2R62	0,865	2	0,0
	OG2D4-CG2R63-CG2R62-OG311	6,682	1	180,0

	OG311-CG2R62-CG2R67-CG2R67	3,631	2	180,0
	OG3R60-CG2R67-CG2R67-CG2R61	1,419	2	180,0

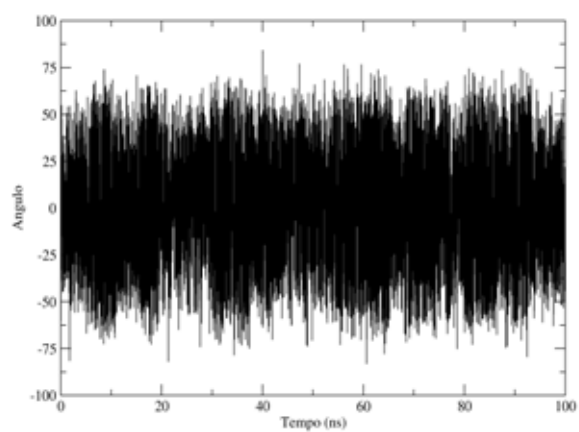
3.3.6 – Simulação da quercetina em água

Apresentamos, agora, os histogramas da simulação e gráficos do ângulo em função da energia:

A) CG2R63 – CG2R62 - CG2R67 – CG2R67



B) CG2R62 – CG2R67 - CG2R67 – CG2R61



C) CG2R62 – OG3R60 - CG2R67 – CG2R67

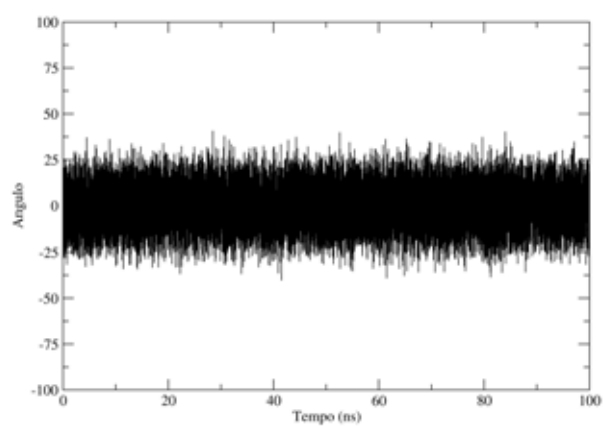


Figura 3.26: Comportamento dos diedrais em função do tempo e histogramas da visitação dos diedrais durante a simulação e PES dos diedrais em função do ângulo.

Diedrais que descrevem a ligação responsável pela emenda dos dois fragmentos que irão constituir a molécula tem maior mobilidade, e, portanto, visitam mais ângulos. Os ângulos mais visitados na simulação são aqueles que têm uma menor energia durante o *scan* dos diedrais. O diedral C inclui átomos da emenda, mas descreve uma ligação em torno do anel e por essa razão, o intervalo de ângulos a ser percorrido é menor. O diedral B descreve, efetivamente, a ligação que une o chromone e o 1,2-dihidroxibenzeno para formar a quercetina. Embora o *scan* mostre que o intervalo de ângulos que podem ser visitados varie praticamente de -180° a 180° , durante a simulação a molécula não visita todos esses ângulos; isto pode ser atribuído ao fato de a molécula talvez não conseguir superar uma barreira de energia que a permitiria visitar diferentes conformações. O *scan* também mostra um mínimo de energia por volta de -150° e 150° . Isso pode indicar que a molécula pode ter uma outra conformação de mínima energia além daquela encontrada durante a otimização de geometria. Fizemos, então, uma simulação da molécula em água com o anel de 1,2-dihidroxibenzeno rotacionado em 180° e verificamos o comportamento deste diedral nessa nova conformação da molécula:



Figura 3.27: Quercetina com o anel de 1,2-dihidroxibenzeno rotacionado em 180°.

CG2R62 – CG2R67 - CG2R67 – CG2R61

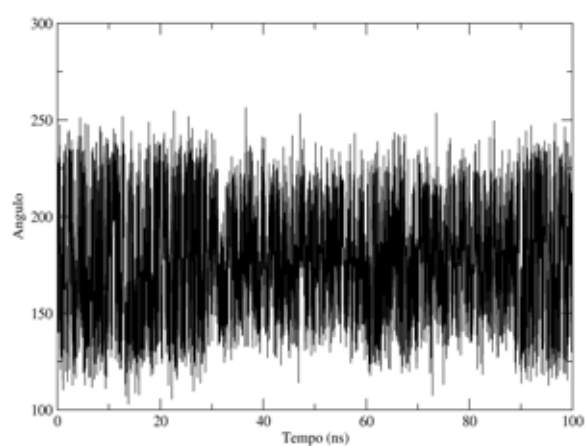


Figura 3.28: Comportamento dos diedrais em função do tempo e histogramas da visitação dos diedrais durante a simulação e PES dos diedrais em função do ângulo.

Podemos notar que, em -150° e 150° há realmente um pico de visitação, e, em -100° e 100° a visitação é praticamente nula; esses comportamentos são o que esperávamos analisando o gráfico do *scan*, em que há um mínimo e um máximo de energia de energia nessas mesmas regiões, respectivamente. Com isso, podemos dizer que a quercetina apresenta duas conformações de mínima energia: uma com as hidroxilas do 1,2-di-hidroxibenzeno “viradas para cima”, e uma em que essas hidroxilas estão “viradas para baixo”.

Mostramos, até aqui, a modelagem da quercetina. Para tal, modelamos primeiramente o chromone, depois o 1,2-di-hidroxibenzeno e os unimos para formar a quercetina, modelando somente os parâmetros que dizem respeito à ligação dessas duas moléculas. Os parâmetros obtidos para a quercetina contribuem para a modelagem de alguns flavonoides derivados da quercetina, mostrados no Anexo B.

3.4 – Modelagem de flavonoides glicosilados

3.4.1 - n55_Kaempferol-7-o-b-a-l-rhamnopira

Modelaremos também alguns flavonoides glicosilados. Eles tem como base a quercetina, de modo que, o que teremos que modelar é a ligação entre a quercetina e os açúcares. Para os açúcares, usaremos o campo de força próprio para carboidratos. É importante lembrar que, para cada classe de moléculas deve ser usado seu campo de força específico. Neste caso, usaremos o campo de forças CHARMM para carboidratos e o CGenFF para a quercetina e para os parâmetros condizentes à ligação. Mostremos inicialmente a modelagem do flavonoide n55_Kaempferol-7-o-b-a-l-rhamnopira (figura 3.29). Este flavonoide consiste basicamente na ligação de um anel de açúcar ligado a quercetina.

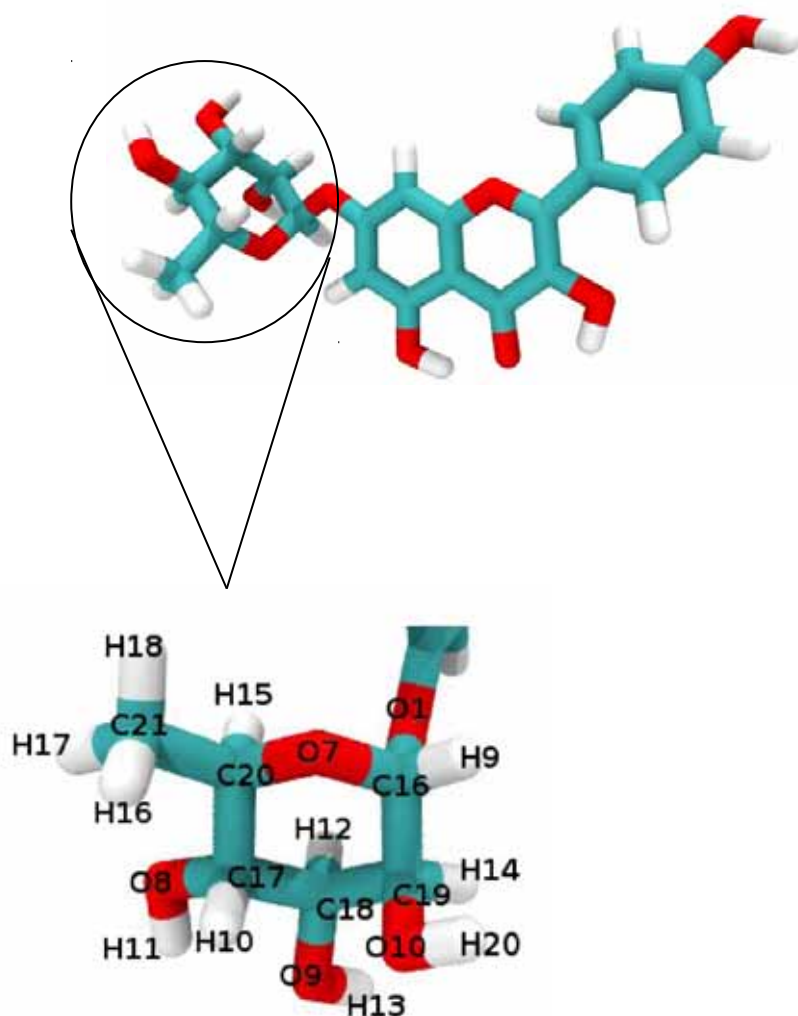


Figura 3.29: Átomos do flavonoide n55_Kaempferol-7-o-b-a-l-rhamnopyra. Identificamos aqui somente os átomos que dizem respeito ao anel de açúcar, uma vez que os átomos do restante da molécula são os mesmos da quercetina, já explicitados anteriormente.

Tabela 3.14: Tipos de átomos do anel de açúcar e cargas inicialmente atribuídas, dadas pelo capo de força para carboidratos

Átomo	Tipo de átomo	Carga Inicial (e)	Descrição
C17, C18, C19	CC3161	0.140	Carbono ligado a hidroxila
O1	OG311	-0.19	Oxigênio de hidroxila

C16	CC3162	0.340	Carbono anomérico ligado a hidroxila
C20	CC3163	0.110	CH exocíclico
C21	CC331	-0.270	Carbono acíclico ligado a H3
O8, O9, O10	OC311	-0.65	Oxigênio de hidroxila
O7	OC3C61	-0.400	Oxigênio de éter em anéis de 6 membros
H9, H10, H12, H14, H15	HCA1	0.09	Hidrogênio alifático (CH)
H16, H17, H18	HCA3	0.09	Hidrogênio alifático (CH3)
H11, H13, H20	HCP1	0.042	Hidrogênio polar

Na figura 3.30 podemos ver a sobreposição da estrutura inicial e a obtida pelo Gaussian no nível de teoria MP2/6-31G(d)

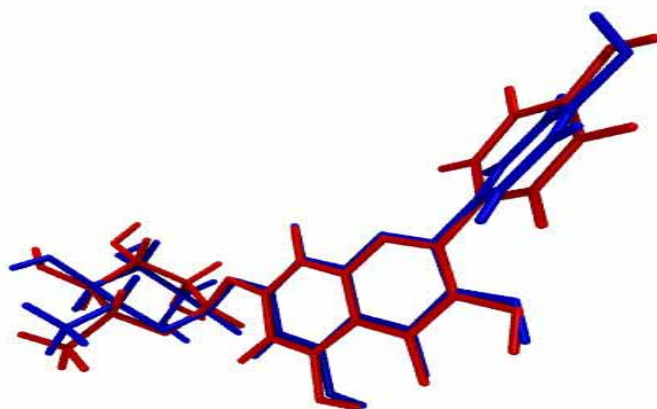


Figura 3.30: Estrutura otimizada em vermelho e estrutura construída pelo *Molefacture* em azul.

Neste caso não iremos otimizar as cargas porque iremos usar as mesmas cargas da quercetina e a, para o anel de açúcar, as cargas estabelecidas no campo de força para carboidratos. Como estabelecido pela metodologia do CGenFF, não devemos remodelar parâmetros já existentes para não perdermos a integridade das moléculas já modeladas.

Os parâmetros para as ligações e ângulos a serem calculados são aqueles que dizem respeito à ligação entre a quercetina e o açúcar. Tais parâmetros são mostrados nas tabelas 3.15 e 3.16:

Tabela 3.15: Ligação e constante de força otimizada

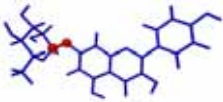
	Ligação	Comprimento da ligação (Å)	Constante de força (Kcal/mol/Å²)
	OG311-CC3162	1.382	293.854

Tabela 3.16: Ângulos e constantes e força otimizados

	Ângulo	θ (°)	Constante de força (Kcal/mol/θ²)
	CG2R61-OG311-CC3162	107,390	96,498
	OG311-CC3162-HCA1	112,050	73,526
	OG311-CC3162-CC3161	103,342	101,706
	OG311-CC3162-OC3C61	113,605	81,652

A figura 3.31 mostra o gráfico da energia em função da conformação do diedral escaneado:

Figura 3.31: Gráfico do PES obtido por mecânica quântica contra o de mecânica molecular. O valor obtido para o RMSE foi 0,443Kcal/mol.

Uma vez escaneado o diedral, fazemos a otimização dos parâmetros. Os valores obtidos são mostrados na tabela 3.17:

Tabela 3.17: Diedrais otimizados

	Diedral Modelado	K (Kcal/mol)	n	δ (°)
	CG2R61-OG311-CC3162-CC3161	2,275	3	180,0
		6,980	2	180,0
	CG2R61-OG311-CC3162-HCA1	2,617	1	0.0
		5,649	2	180,0

Simulação da molécula em água

CG2R61-OG311-CC3162-OC3C61

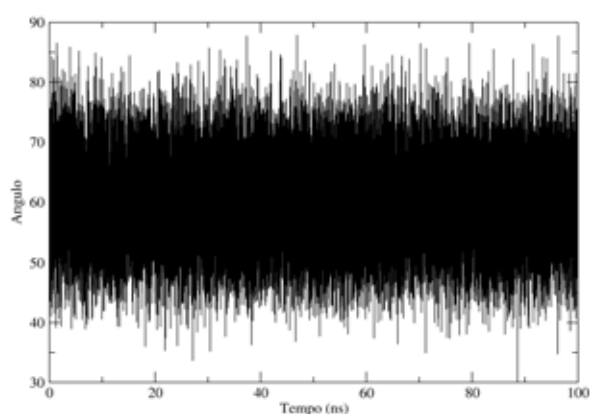


Figura 3.32: Comportamento do diedral em função do tempo, histogramas da visitação dos diedrais durante a simulação e PES dos diedrais em função do ângulo.

Este é o diedral que descreve a junção entre a quercetina e o açúcar, para formar o flavonoide glicosilado. Embora esta ligação tenha liberdade de rotação, pode-se notar que a faixa de ângulos visitados não é muito ampla. Os ângulos mais visitados estão em níveis e energia acima de 0,5 Kcal/mol, o que indica que apenas a energia térmica não é capaz de superar barreiras de energia para que seja possível visitar outras possíveis conformações do diedral. Podemos também notar que

a faixa de ângulos visitados durante a simulação não é totalmente condizente com os ângulos percorridos no scan desse diedral. Podemos atribuir isso ao fato de a ligação glicosídica ser intermediada por um átomo de oxigênio, que, na simulação, pode formar ligações de hidrogênio com as moléculas de água que podem afetar o movimento da molécula, não permitindo que o diedral visite certos ângulos. A fim de entender se a causa dessa diferença entre os ângulos visitados na simulação e no scan, mostramos também a modelagem do flavonoide n59_Apigenina-6-c-b-d-glucopira (figura 3.33), no qual o anel de açúcar é ligado à quercetina, por meio de um átomo de carbono. Os parâmetros obtidos para o n55_Kaempferol-7-o-b-a-l-rhamnopira são análogos os do flavonoide n32_Quercetina_7-o-b-d-glucopira, cuja estrutura é mostrada no Anexo D.

3.4.2 - Modelagem do n59_Apigenina-6-c-b-d-glucopira

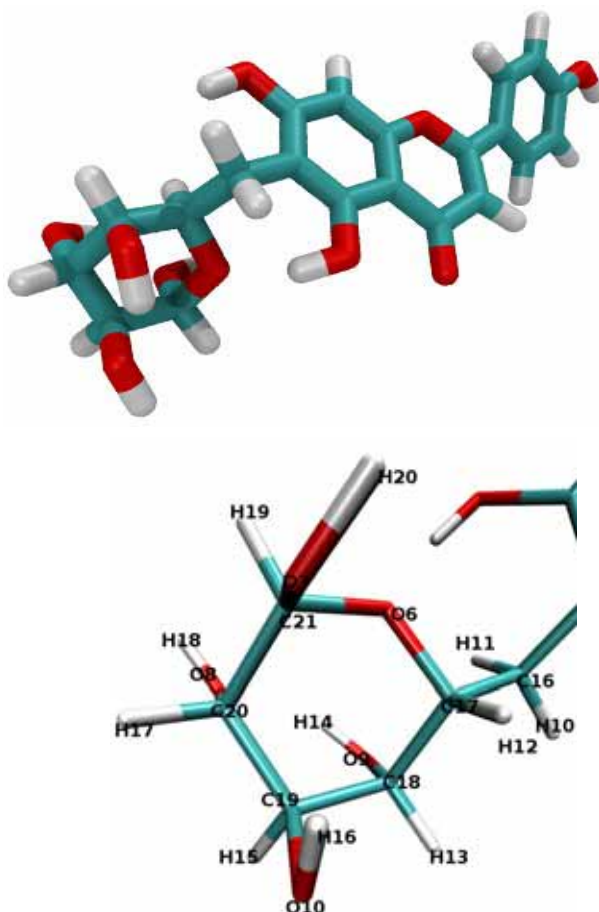


Figura 3:33: Estrutura do flavonoide n59_Apigenina-6-c-b-d-glucopira

Tabela 3.18: Tipos de átomos do anel de açúcar e cargas inicialmente atribuídas, dadas pelo campo de força para carboidratos

Átomo	Tipo de átomo	Carga Inicial (e)	Descrição
C16	CC331	-0,399	Carbono acíclico ligado a H3
C17	CC3163	0,146	CH exocíclico
O6	OC3C61	-0,400	Oxigênio de éter em anéis de 6 membros
C18, C19, C20	CC3161	0,140	Carbono ligado a hidroxila
H10, H11	HCA3	0,209	Hidrogênio alifático (CH3)
H12, H13, H15, H17, H19,	HCA1	0,090	Hidrogênio alifático (CH)
O7, O8, O9, O10	OC311	-0,650	Oxigênio de hidroxila
C21	CC3162	0,585	Carbono anomérico ligado a hidroxila

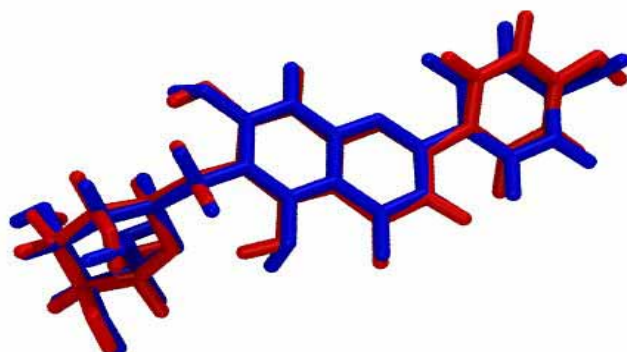


Figura 3.34: Estrutura otimizada em vermelho e estrutura construída pelo Molefacture em azul.

Tabela 3.19: Ligação e constante de força otimizados

	Ligação	Comprimento da ligação (Å)	Constante de força (Kcal/mol/Å ²)
	CG2R61-CC331	1,441	240,011

Tabela 3.20: Ângulos e constantes e força otimizados

	Ângulo	θ (°)	Constante de força (Kcal/mol/ θ^2)
	CG2R61-CG2R61-CC331	122,148	13,983
	CG2R61-CC331-HCA3	108,642	29,523
	CG2R61-CC331-CC3163	107,121	25,980

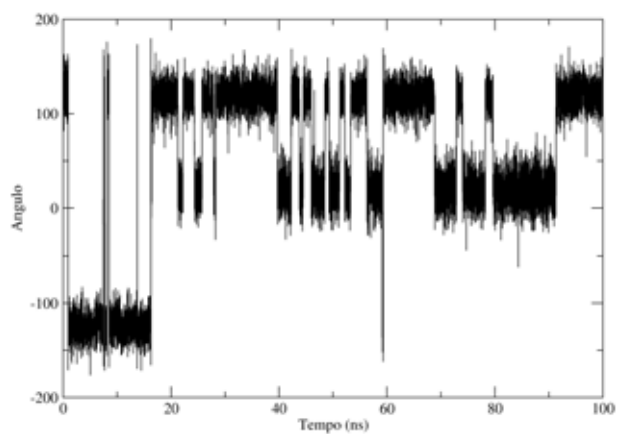
Figura 3.35: Gráfico do PES obtido por mecânica quântica e mecânica molecular. O RMSE foi de 0,510Kcal/mol.

Tabela 3.21: Diedrais otimizados

	Diedral Modelado	K (Kcal/mol)	n	δ (°)
	CG2R61-CC331-CC3163-CC3161	0,663	1	180,0
		0,746	2	0,0
	CG2R61-CG2R61-CC331-CC3163	0,136	2	180,0
	CG2R61-CC331-CC3163-HCA1	2,500	1	0,0
		0,106	2	180,0
	CG2R61-CC331-CC3163-CC3161	0,841	2	180,0
	CG2R61-CG2R61-CC331-HCA3	2,122	1	0,0
		0,150	2	180,0

Simulação da molécula em água

A) CG2R61-CG2R61-CC331-CC3163



B) CG2R61-CC331-CC3163-CC3161

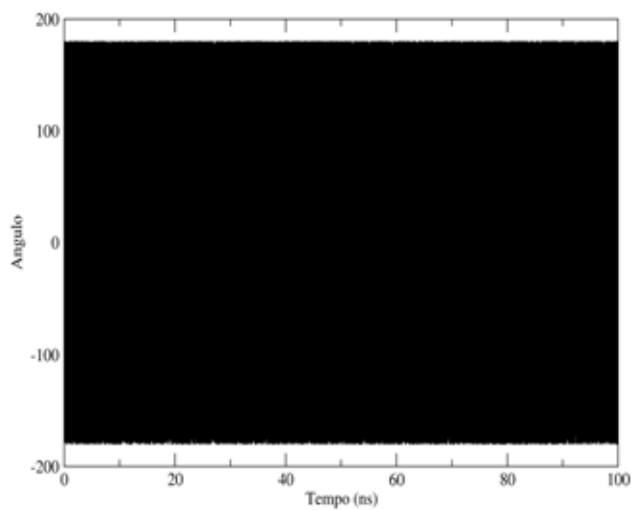


Figura 3.36: Comportamento dos diedrais em função do tempo e histogramas da visitação dos diedrais durante a simulação e PES dos diedrais em função do ângulo.

Os dois diedrais escaneados e investigados durante a simulação descrevem a ligação entre a quercetina e o anel de açúcar. O histograma do diedral A apresenta três picos, ou seja, três ângulos que são muito visitados durante a simulação. Os dois primeiros picos estão em ligeiro acordo com as regiões de baixa energia do *scan*, como devemos esperar. No entanto, não conseguimos verificar o terceiro pico; acreditamos que isto pode estar relacionado com o fato de o *scan* não ter visitado toda a faixa de ângulos prevista, possivelmente em virtude da existência de alguma barreira de energia encontrada. Como se pode ver também, não conseguimos reproduzir tão bem a curva da mecânica quântica, e, com isso, os valores que obtivemos para os parâmetros não são os melhores possíveis, o que também pode contribuir para o fato de os ângulos visitados na simulação não estarem em total acordo com aqueles percorridos durante a modelagem. Já para o diedral B, mesmo com a curva do *scan* um tanto quanto complicada, encontramos uma concordância maior concordância: observamos que em torno de 180° há um pico no histograma, concordando com a baixa energia nesta mesma região no gráfico do *scan*.

Mostramos a modelagem do n59_Apigenina-6-c-b-d-glucopira a fim de verificar se o fato de a ligação da quercetina com o anel de açúcar mediada por um átomo que não fosse o oxigênio – como era o caso do n55_Kaempferol-7-o-b-a-l-rhamnopira - poderia gerar melhores resultados. Apesar de reprodução do *scan* e a comparação com os resultados obtidos durante a simulação terem sido um pouco melhores, não consideramos que foram satisfatórios a ponto de se poder

afirmar que uma ligação intermediada por um átomo de oxigênio seja mais difícil de ser modelada.

Conclusões

Neste trabalho mostramos o processo de modelagem para flavonoides e cumarinas seguindo a metodologia do CGenFF. Partimos de uma molécula base, pequena, e adicionamos fragmentos até formar moléculas mais complexas. Modelamos o chromone e o 1,2-dihidroxibenzeno primeiramente; os unimos obtendo a quercetina, e, finalmente, adicionamos um anel de açúcar, formando o n55_Kaempferol-7-o-b-a-l-rhamnopira e do n59_Apigenina-6-c-b-d-glucopira. Procuramos encontrar parâmetros que façam a função potencial de mecânica molecular reproduzir o mais fielmente possível os cálculos de mecânica quântica. Os parâmetros são obtidos através da convergência de uma função objetivo. As cargas recebem um tratamento especial, uma vez que invés de simplesmente usar aquelas obtidas na otimização de geometria, refinamos o cálculo através de sua interação com moléculas de água. No que diz respeito aos parâmetros ligados, demos especial atenção para os cálculos dos diedrais, uma vez que são grandes responsáveis pela flexibilidade da molécula. Verificamos a reprodução dos dados de mecânica quântica e molecular comparando os perfis de energia. Após alguns ciclos de otimização, o perfil de mecânica quântica é consideravelmente bem reproduzido, de modo que podemos concluir que os parâmetros obtidos são bons. A análise dos diedrais na simulação da molécula em água também mostra resultados que confirmam o que foi visto na modelagem: os diedrais visitam uma faixa de ângulos que podem ser acessados atravessando algumas barreiras de energia. A faixa de ângulos visitados pelo diedral é também limitada pela sua posição na molécula: diedrais internos a um anel tem mobilidade bastante limitada; diedrais externos ao anel podem visitar uma maior faixa de ângulos; diedrais responsáveis pela ligação entre duas moléculas, como é o caso da ligação da quercetina com anéis de açúcar para a formação de flavonoides glicosilados, são mais difíceis de serem modelados, porque, embora a ligação tenha uma grande liberdade rotacional, a visitação de todos os ângulos possíveis pode ter um alto custo energético. Sendo assim, podemos dizer que a ligação da quercetina a anéis de açúcar, independente do átomo que esteja mediando a ligação, é um pouco mais difícil de ser modelada, e pode não fornecer resultados tão satisfatórios quanto aqueles que obtemos quando modelamos ligações de fragmentos menores e mais simples, como foi o caso da junção do chromone ao 1,2-di-hidroxibenzeno.

Podemos concluir que graças ao CGenFF podemos fazer simulações de moléculas orgânicas com moléculas biológicas sem correr o risco de usar campos de forças criados com diferentes abordagens e, assim, obter resultados inconsistentes. A ideia principal do CGenFF é que a modelagem tenha como princípio cálculos de mecânica quântica, ao invés de dados experimentais,

muitas vezes indisponíveis para a classe de moléculas que se pretende tratar. Conseguimos reproduzir todos esses cálculos com o máximo de precisão possível, dentro das diferenças que a metodologia permite. Todo o procedimento foi realizado no *fftk*, ferramenta que se mostrou de grande eficiência no processo.

ANEXO A

Cumarinas

• Cumarina



Átomo	Tipo de átomo	Carga inicial (estabelecida pelo CGenFF ou por analogia com outras moléculas)	Carga otimizada (somente para átomos que implicam otimização de carga)
C1, C2, C3, C4	CG2R61	-0,115	-
C5	CG2R62	-0,09	-
C6	CG2R62	0,407	-
H1, H2, H3, H4	HGR61	0,115	-
O1	OG3R60	0,0	-0,309
O2	OG2D4	0,0	-0,313
C7	CG2R62	0,0	0,006
C8	CG2R62	0,0	-0,395
C9	CG2R63	0,0	0,305
H5	HGR62	0,0	0,157
H6	HGR62	0,0	0,229

Ligação	Comprimento da ligação (Å)	Constante de força (Kcal/mol/Å ²)
CC3163-CG2R61	1.477	296.837

Ângulo	$\theta(^{\circ})$	Constante de força (Kcal/mol/Å ²)
--------	--------------------	--

OG3R60-CG2R63-CG2R62	130.636	41,781
OG3R60-CG2R63-OG2D4	122,720	75,040
CG2R63-OG3R60-CG2R62	130,672	25,233

Diedral Modelado	Parâmetros finais		
	K (Kcal/mol/Å ²)	n	δ(°)
Diedrais obtidos por analogia			
CG2R62-OG3R60-CG2R63-CG2R62	6,987	1	180,0
CG2R63-OG3R60-CG2R62-CG2R62	6,987	1	180,0
OG3R60-CG2R63-CG2R62-CG2R62	6,992	1	180,0
CG2R62-OG3R60-CG2R63-OG2D4	5,431	1	180,0
HGR62-CG2R62-CG2R62-CG2R61	6,682	1	180,0
OG3R60-CG2R63-CG2R62-HGR62	5,455	1	0,0
CG2R62-CG2R62-CG2R62-OG3R60	6,992	1	180,0
CG2R63-OG3R60-CG2R62-CG2R61	3,564	1	0,0
CG2R62-CG2R62-CG2R62-CG2R61	6,935	1	0,0

• Esculetina



Átomo	Tipo de átomo	Carga inicial (estabelecida pelo CGenFF ou por analogia com outras moléculas)	Carga otimizada (somente para átomos que implicam otimização de carga)
C1, C4	CG2R61	-0,115	-
C2	CG2R61	0,0	0,102
C3	CG2R61	0,0	0,001
C5	CG2R62	0,09	-
C6	CG2R62	0,407	-
C7	CG2R62	-0,003	-0,003
C8	CG2R62	-0,012	-
C9	CG2R63	0,0	0,400
H1, H2	HGR61	0,115	-
H3	HGR62	0,168	-
H4	HGR62	0,128	-
H5	HGP1	0,0	0,248
H6	HGP1	0,0	0,540
O1	OG3R60	-0,5	-
O2	OG2D4	-0,101	-
O3	OG311	0,0	-0,774
O4	OG311	0,0	-0,517

• 4_metil_esculetina



Átomo	Tipo de átomo	Carga inicial (estabelecida pelo CGenFF ou por analogia com outras moléculas)	Carga otimizada (somente para átomos que implicam otimização de carga)
C1, C2, C3, C4	CG2R61	-0,115	-
O1	OG3R60	-0,5	-
O2	OG2D4	-0,101	-
C5	CG2R62	-0,09	-
C6	CG2R62	0,407	-
C8	CG2R62	-0,012	-
H1, H4	HGR61	0,11	-
H5	HGR62	0,0	0,128
C2	CG2R61	0,0	0,101
C3	CG2R61	0,0	0,102
C7	CG2R62	0,0	-
C9	CG2R63	0,0	0,4
C10	CG331	0,0	-0,698
O3	OG311	0,0	-0,647
O4	OG311	0,0	-0,507
H2	HGP1	0,0	0,470
H3	HGP1	0,0	0,492
H6, H7, H8	HGA3	0,0	0,152

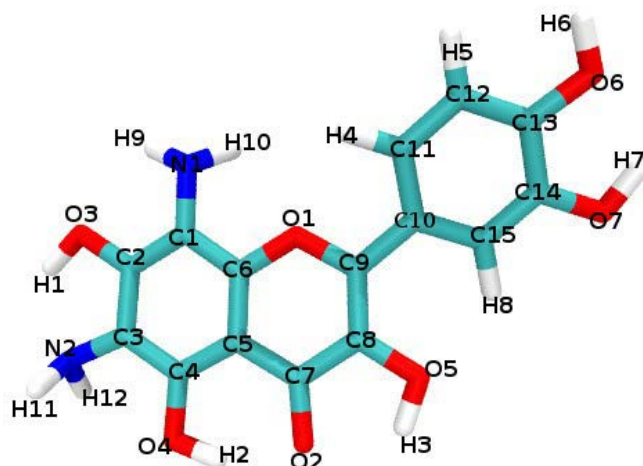
Diedral Modelado	Parâmetros finais		
	K (Kcal/mol/Å²)	n	δ(°)
Diedral otimizado			

CG2R63-CG2R62-CG2R62-CG331	0,8	3	0,0
CG331-CG2R62-CG2R62-CG2R61	0,885	3	180,0
CG331-CG2R62-CG2R62-CG2R62	4,999	3	0,0

ANEXO B

Flavonoides derivados da quercetina

• Quercetina-n2



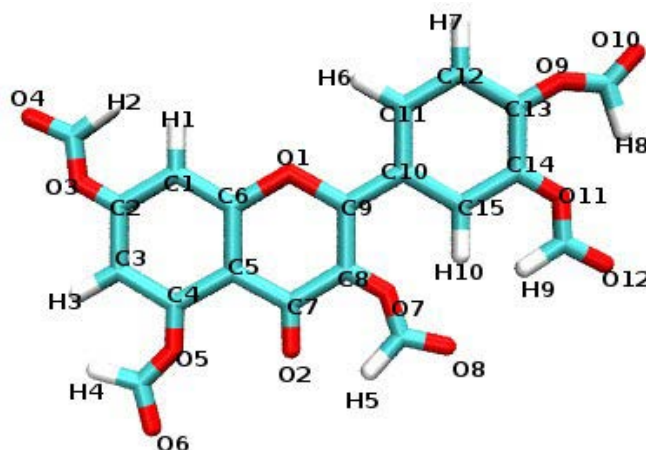
Átomo	Tipo de átomo	Carga inicial (estabelecida pelo CGenFF ou por analogia com outras moléculas)	Carga otimizada (somente para átomos que implicam otimização de carga)
C1, C11, C12, C15	CG2R61	0,0	0,192
C2	CG2R61	0,218	-
C3	CG2R61	0,0	0,031
C4	CG2R61	0,307	-
C5	CG2R62	-0,09	-
C6	CG2R62	0,407	-
C7	CG2R63	0,418	-
C8	CG2R62	0,113	-
C9	CG2R67	0,163	-
C10	CG2R67	-0,048	-
C13, C14	CG2R61	0,136	-
H1	HGP1	0,451	-
H2	HGP1	0,555	-
H3	HGP1	0,525	-
H4, H5 ,H8	HGR61	0,115	-
H6, H7	HGP1	0,438	-

H9, H10	HGP4	0,0	0,434
H11, H12	HGP4	0,0	0,287
N1	NG2S3	0,0	-0,995
N2	NG2S3	0,0	-0,670

Ângulo	$\theta(^{\circ})$	Constante de força (Kcal/mol/Å ²)
CG2R62-CG2R61-NG2S3	111,986	44,613

Diedral Modelado	Parâmetros finais		
	K (Kcal/mol/Å ²)	n	$\delta(^{\circ})$
Diedrais obtidos por analogia			
NG2S3-CG2R61-CG2R62-OG3R60	6,515	1	180,0
NG2S3-CG2R61-CG2R61-CG2R62	6,746	1	0,0
NG2S3-CG2R61-CG2R62-CG2R62	1,568	1	0,0
NG2S3-CG2R61-CG2R61-OG311	2,4	2	180,0
Diedrais otimizados			
CG2R62-CG2R61-NG2S3-HGP4	4,9340	3	180,0

• DRGFIN



Átomo	Tipo de átomo	Carga inicial (estabelecida pelo CGenFF ou por analogia com outras moléculas)	Carga otimizada (somente para átomos que implicam otimização de carga)
H1, H3, H6, H7, H10	HGR61	0,115	-
H2, H4, H5, H8, H9	HGA1	0,09	-
C1, C2, C3, C11, C12, C13, C14 C15	CG2R61	-0,115	-
C4	CG2R61	0,307	-
C5	CG2R62	-0,09	-
C6	CG2R62	0,407	-
C8	CG2R62	0,113	-
C7	CG2R63	0,418	-
C9	CG2R67	0,163	-
C10	CG2R67	-0,048	-
O1	OG3R60	-0,4	-
O2	OG2D4	-0,701	-
O3	OG302	-0,19	-
O5, O7, O9, O11	OG302	-0,163	-
C16	CG2O2	0,0	0,461
C17	CG2O2	0,0	0,490
C18	CG2O2	0,0	0,2
C19	CG2O2	0,0	0,356
C20	CG2O2	0,0	0,5
O4	OG2D1	0,0	-0,387
O6	OG2D1	0,0	-0,407

O8	OG2D1	0,0	-0,499
O10	OG2D1	0,0	-0,497
O12	OG2D1	0,0	-0,237

Ligação	Comprimento da ligação (Å)	Constante de força (Kcal/mol/Å ²)
CG2R61-OG302	1,376	384,893
CG2R62-OG302	1,378	429,177
CG2O2-HGA1	1,100	339,301

Ângulo	θ	Constante de força (Kcal/mol/Å ²)
CG2R61-CG2R61-OG302	119,637	71,495
CG2R61-OG302-CG2O2	115,543	65,992
CG2R63-CG2R62-OG302	121,695	148,961
CG2R62-OG302-CG2O2	115,969	89,722
CG2R67-CG2R62-OG302	118,141	3,688
CG2R62-CG2R61-OG302	120,214	99,927
OG302-CG2O2-HGA1	113,788	67,356
OG2D1-CG2O2-HGA1	127,763	86,344

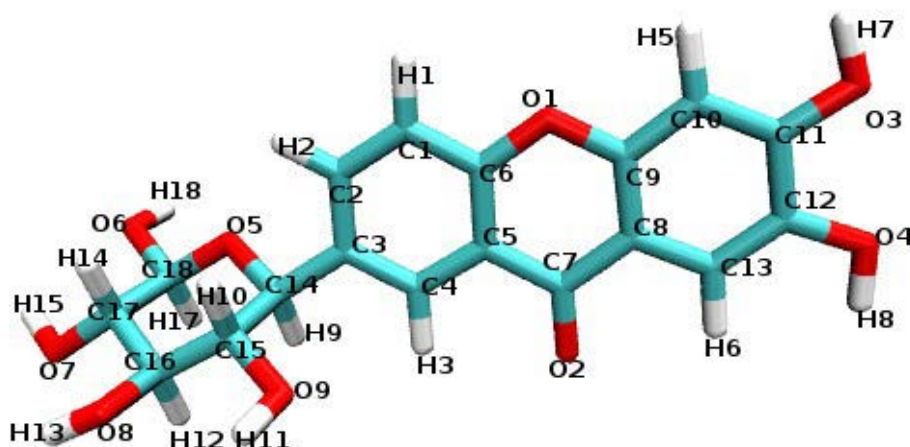
Diedral Modelado	Parâmetros finais		
	K (Kcal/mol/Å ²)	n	δ(°)
Diedrais obtidos por analogia			
OG2D4 CG2R63 CG2R62 OG302	6,682	1	180,0
OG302 CG2R61 CG2R61 CG2R67	3,1	2	180,0
CG2R61 CG2R61 CG2R61 OG302	3,1	2	180,0
CG2R62 CG2R61 CG2R61 OG302	6,746	1	0,0
OG302 CG2R61 CG2R62 CG2R62	1,568	1	0,0
HGR61 CG2R61 CG2R61 OG302	2,4	2	0,0
OG302 CG2R61 CG2R62 CG2R63	6,995	1	180,0
OG302 CG2R62 CG2R67 OG3R60	5,455	1	0,0
CG2R62 CG2R63 CG2R62 OG302	2,076	1	180,0
OG302 CG2R62 CG2R67 CG2R67	3,631	2	180,0

OG302 CG2R61 CG2R61 OG302	1,791	3	180,0
Diedrais otimizados			
CG2R61-CG2R61-OG302-CG2O2	4,873	1	180,0
	0,873	2	18,0
	0,865	3	180,0
CG2R61-OG302-CG2O2-OG2D1	0,411	1	180,0
	0,401	2	180,0
CG2R63- CG2R62-OG302-CG2O2	1,996	1	180,0
	4,907	2	180,0
CG2R67- CG2R62-OG302-CG2O2	3,806	1	180,0
	4,992	2	180,0
CG2R62-CG2R61-OG302-CG2O2	4,980	1	180,0
	3,604	2	180,0
OG2D1-CG2O2-OG302-CG2R62	4,898	1	0,0
	4,526	2	0,0
CG2R61-OG302-CG2O2- HGA1	0,737	1	0,0
	4,781	2	180,0
HGA1-CG2O2-OG302-CG2R62	3,483	1	180,0
	2,513	2	180,0

ANEXO C

Flavonoides glicosilados

• Mangiferina



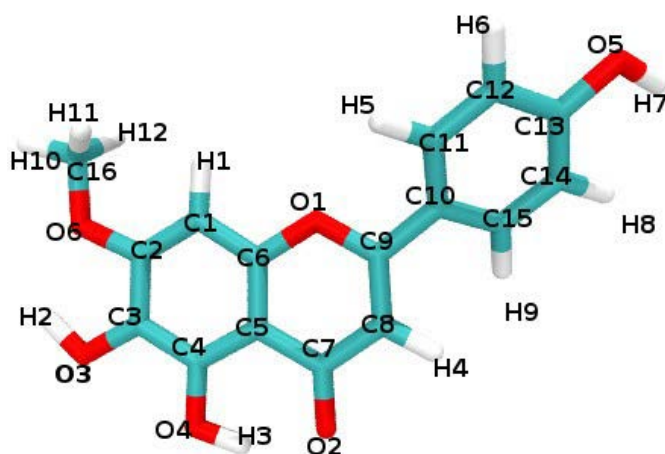
Átomo	Tipo de átomo	Carga inicial (estabelecida pelo CGenFF ou por analogia com outras moléculas)	Carga otimizada (somente para átomos que implicam otimização de carga)
C1, C2, C3, C4, C10, C13	CG2R61	-0,115	-
C5	CG2R62	-0,09	-
C6	CG2R62	0,407	-
C7	CG2R63	0,418	-
C15, C16, C17	CC3161	0,14	-
H1, H2, H3, H5, H8	HGR61	0,115	-
H9, H10, H12, H14, H16	HCA1	0,09	-
H11, H13, H15, H17	HCP1	0,42	-
O1	OG3R60	-0,4	-
O2	OG2D4	-0,468	-
O5	OC3C61	-0,400	-
O7, O8, O9	OC311	-0,650	-
C7	CG2R63	0,418	-
C8	CG2R62	0,0	-0,079

C3	CG2R61	0,0	0,031
C14	CC3163	0,0	0,021
C18	CC3162	0,0	0,179
C11, C12	CG2R61	0,0	0,100
O3	OG311	0,0	-0,551
O4	OG311	0,0	-0,584
H6	HGP1	0.0	0.425
H7	HGP1	0.0	0.377

Ângulo	$\theta(^{\circ})$	Constante de força (Kcal/mol/Å ²)
OC3C61-CC3163-CG2R61	109,226	70,588
CC3163-CG2R61 CG2R61	120,864	33,361
HCA1-CC3163-CG2R61	113,099	17,955
CC3161-CC3163-CG2R61	109,189	42,743

Diedral Modelado	Parâmetros finais		
	K (Kcal/mol/Å ²)	n	$\delta(^{\circ})$
Diedrais otimizados			
OC3C61-CC3163-CG2R61-CG2R61	2,836	1	0,0
CG2R6-CC3163-CC3161-OC311	2,993	1	0,0
HGR61-CG2R61-CG2R61-CC3163	1,079	1	0,0
CC3162-OC3C61-CC3163-CG2R61	0,724	1	0,0
HCA1-CC3163-CG2R61-CG2R61	0,796	1	0,0
CG2R61-CG2R61-CG2R61-CC3163	2,132	1	0,0
CG2R61-CC3163-CC3161-HCA1	0,838	1	0,0
CG2R61-CC3163-CC3161-CC3161	1,04	1	0,0
CC3161-CC3163-CG2R61-CG2R61	1,684	1	0,0
CC3163-CG2R61-CG2R61-CG2R62	2,601	1	0,0

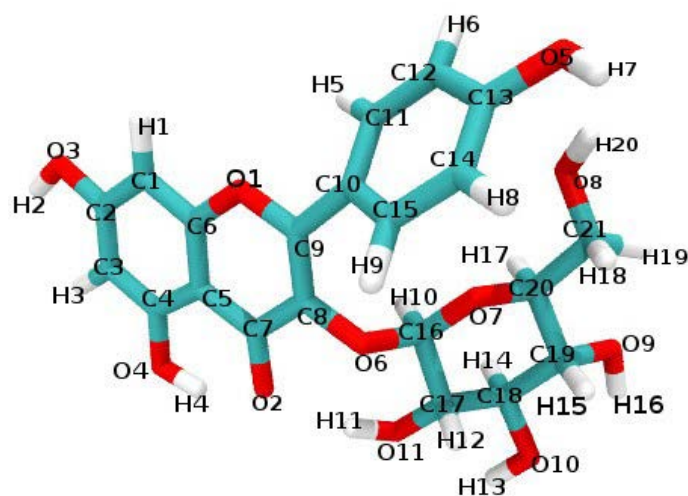
• **n43_4-5-6-triidroxi-7-metoxiflavona**



Átomo	Tipo de átomo	Carga inicial (estabelecida pelo CGenFF ou por analogia com outras moléculas)	Carga otimizada (somente para átomos que implicam otimização de carga)
C1, C11, C12, C14, C15	CG2R61	-0,115	-
C2	CG2R61	0,218	-
C3	CG2R61	0,0	0,001
C4	CG2R61	0,307	-
C5	CG2R62	-0,09	-
C6	CG2R62	0,407	-
C7	CG2R63	0,418	-
C8	CG2R62	0,0	-0,498
C9	CG2R67	0,163	-
C10	CG2R67	-0,048	-
C13	CG2R61	0,110	-
C16	CG331	0,0	-0,284
H1, H5, H6, H8, H9	HGR61	0,115	-
H2	HGP1	0,0	0,459
H3	HGP1	0,555	-
H4	HGR62	0,0	0,335
H7	HGP1	0,420	-
H10, H11, H12	HGA3	0,0	0,151

Ângulo	$\theta(^{\circ})$	Constante de força (Kcal/mol/Å ²)
CG2R67-CG2R62-HGR62	123,129	7,325
CG2R61-OG311-CG331	112,727	90,700

Diedral Modelado	Parâmetros finais		
	K (Kcal/mol/Å ²)	n	$\delta(^{\circ})$
Diedrais obtidos por analogia			
OG311-CG2R61-CG2R61-OG311	1,791	3	180,0
Diedrais otimizados			
CG2R61-OG311-CG331-HGA3	1,39	1	0,0
CG2R67-CG2R67-CG2R62-HGR62	0,468	1	0,0
CG2R61-CG2R61-OG311-CG331	2,993	1	180,0
OG3R60-CG2R67-CG2R62-HGR62	1,2	1	0,0



Átomo	Tipo de átomo	Carga inicial (estabelecida pelo CGenFF ou por analogia com outras moléculas)	Carga otimizada (somente para átomos que implicam otimização de carga)
H1, H3, H5, H6, H8, H9	HGR61	0,115	-
H2, H4, H7	HGA1	0,09	-
H10, H12, H15, H17	HCA1	0,09	
H11, H13, H16, H20	HCP1	0,42	-
H18, H19	HCA2	0,09	
C1, C2, C3, C11, C12, C13, C14 C15	CG2R61	-0,115	-
C4	CG2R61	0,307	-
C5	CG2R62	-0,09	-
C6	CG2R62	0,407	-
C8	CG2R62	0,113	-
C7	CG2R63	0,418	-
C9	CG2R67	0,163	-
C10	CG2R67	-0,048	-
O1	OG311	-0,641	-
O2	OG311	-0,718	-
O3	OG3R60	-0,40	-
O4	OG2D4	-0,700	-

O5	OG311	-0,530	-
O6	OC311	-0,650	-
O7	OC3C61	-0,400	-
O9, O10, O11	OC311	-0,650	-
O8	OC311	-0,650	-
C16	CC3162	0,340	-
C17, C18, C19	CC3162	0,340	-
C21	CC321	0,05	-

Ligação	Comprimento da ligação (Å)	Constante de força (Kcal/mol/Å ²)
CG2R62-OC311	1,211	410,843

Ângulo	$\theta(^{\circ})$	Constante de força (Kcal/mol/Å ²)
CG2R67-CG2R62-OC311	122,872	37,076
CG2R63-CG2R62-OC311	143,599	78,247
CG2R62-OC311-CC3162	95,692	114,725

Diedral Modelado	Parâmetros finais		
	K (Kcal/mol/Å ²)	n	$\delta(^{\circ})$
Diedrais obtidos por analogia			
OG2D4-CG2R63-CG2R62-OC311	6,682	1	180,0
OG3R60-CG2R67-CG2R62-OC311	5,455	1	0,0
CG2R62-CG2R63-CG2R62-OC311	2,076	1	180,0
CG2R67-CG2R67-CG2R62-OC311	3,631	2	180,0
Diedrais otimizados			
CG2R62-OC311-CC3162-HCA1	4,723	1	180,0
	1,272	3	180,0
	1,227	2	180,0
	3,876	4	180,0
CG2R62-OC311-CC3162-CC3161	4,622	1	0,0
	1,164	2	180,0
	5,023	4	180,0
CG2R67-CG2R62-OC311-CC3162	8,000	1	180,0
	4,479	2	180,0
	0,129	6	180,0
CG2R63-CG2R62-OC311-CC3162	8,0	1	0,0

	5,721	2	180,0
CG2R62-OC311-CC3162-OC3C61	3,478	2	180,0
	6,407	4	180,0

ANEXO D

Flavonoides com parâmetros obtidos puramente por analogia a outros já modelados

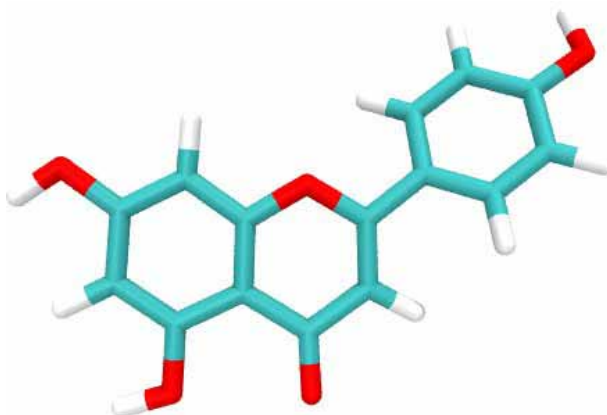
- **n11_miricetina** – parâmetros obtidos por analogia com a modelagem da quercetina;



- **n29_Kaempferol** - parâmetros obtidos por analogia com a modelagem da quercetina;



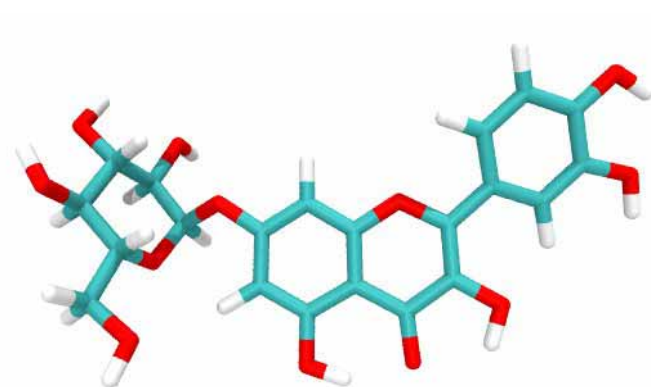
- **n64_Apigenina** - parâmetros obtidos por analogia com a modelagem da quercetina;



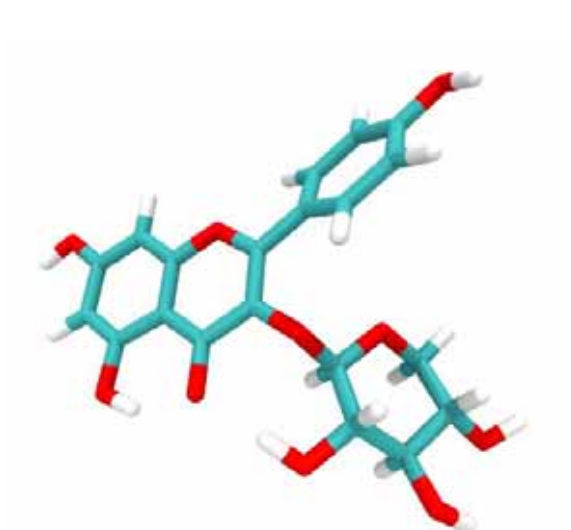
- **DRGFIN_na** - parâmetros obtidos por analogia com a modelagem da quercetina-n2



- **n32_Quercetina_7-o-b-d-glucopira** - parâmetros obtidos por analogia com a modelagem do n55_Kaempferol-7-o-b-a-l-rhamnopira



- **n34_Kaempferol-3-o-b-d-xilanopirano** - parâmetros obtidos por analogia com a modelagem do n28_Kaempferol-3-o-b-d-gluco



- **n71_Miricetina-3-o-b-d-Glucopira** - todos os parâmetros obtidos por analogia com a modelagem do n28_Kaempferol-3-o-b-d-gluco



ANEXO E

“Flavonoides force field – flavonoides.prm”

BONDS

$$!V(\text{bond}) = K_b(b - b_0)^{**2}$$

!

!Kb: kcal/mole/A**2

!b0: A

!

!atom type Kb b0

!

CG2R61	CG2R62	286.955	1.187
CG2R62	OG3R60	214.922	1.329
CG2R62	CG2R67	369.272	1.283
CG2R62	OG311	381.492	1.282
CG2R67	OG3R60	274.455	1.308
OG3R60	CG2R63	369.725	1.389
CG2R61	OG302	384.893	1.376
CG2R62	OG302	429.177	1.378
CG2O2	HGA1	339.301	1.100
CG2R61	CC331	240.011	1.441
CG2R62	OC311	410.843	1.211
CC3163	CG2R61	296.837	1.477

ANGLES

!CG2R61 CC331 240.011 1.441

$$!V(\text{angle}) = K_{\theta}(\theta - \theta_0)^{**2}$$

!

!V(Urey-Bradley) = $K_b(S - S_0)^{**2}$

!

!Ktheta: kcal/mole/rad**2

!Theta0: degrees

!Kub: kcal/mole/A**2 (Urey-Bradley)

!S0: A

!

!atom types Ktheta Theta0 Kub S0

!

!

CG2R61	CG2R62	CG2R62	132.710	117.098
CG2R61	CG2R62	OG3R60	201.071	107.241
CG2R61	CG2R61	CG2R62	52.092	115.203
CG2R61	CG2R62	CG2R63	178.345	114.181
CG2R62	CG2R62	OG3R60	105.391	123.438
CG2R62	CG2R63	CG2R62	204.241	111.805
CG2R62	OG3R60	CG2R62	115.232	119.768
CG2R62	CG2R61	HGR61	45.695	117.489
OG3R60	CG2R62	HGR62	120.213	101.621
CG2R63	CG2R62	OG311	45.143	115.323
CG2R63	CG2R62	CG2R67	136.660	118.777
CG2R62	OG311	HGP1	125.521	107.437

CG2R62	CG2R67	OG3R60	4.628	122.463
CG2R62	CG2R67	CG2R67	53.668	126.993
CG2R67	OG3R60	CG2R62	93.224	123.610
CG2R67	CG2R62	OG311	56.525	115.107
CG2R62	CG2R61	OG311	119.137	122.718
OG3R60	CG2R67	CG2R67	58.281	116.870
OG3R60	CG2R63	CG2R62	41.781	130.636
OG3R60	CG2R63	OG2D4	75.040	122.720
CG2R63	OG3R60	CG2R62	25.233	130.672
CG2R67	CG2R62	HGR62	7.325	123.129
CG2R61	OG311	CG331	90.700	112.72
CG2R61	CG2R61	OG302	71.495	119.637
CG2R61	OG302	CG2O2	65.992	115.543
CG2R63	CG2R62	OG302	148.961	121.695
CG2R62	OG302	CG2O2	89.722	115.969
CG2R67	CG2R62	OG302	3.688	118.141
CG2R62	CG2R61	OG302	99.927	120.214
OG302	CG2O2	HGA1	67.356	113.788
OG2D1	CG2O2	HGA1	86.344	127.763
CG2R61	OG311	CC3162	96.498	107.390
OG311	CC3162	HCA1	73.526	112.050
OG311	CC3162	CC3161	101.706	103.342
OG311	CC3162	OC3C61	81.652	113.605
CG2R61	CG2R61	CC331	13.983	122.148
CG2R61	CC331	HCA3	29.523	108.642
CG2R61	CC331	CC3163	25.980	107.121
CG2R67	CG2R62	OC311	37.076	122.872
CG2R63	CG2R62	OC311	78.247	143.599
CG2R62	OC311	CC3162	114.725	95.692
OC3C61	CC3163	CG2R61	70.588	109.226
CC3163	CG2R61	CG2R61	33.361	120.864
HCA1	CC3163	CG2R61	17.955	113.099
CC3161	CC3163	CG2R61	42.743	109.189

DIHEDRALS

!

!V(dihedral) = Kchi(1 + cos(n(chi) - delta))

!

!Kchi: kcal/mole

!n: multiplicity

!delta: degrees

!

!atom types Kchi n delta

!

CG2R61	CG2R62	CG2R62	CG2R63	6.9350	1	0.00
CG2R62	CG2R61	CG2R61	HGR61	6.7460	1	0.00
CG2R61	CG2R61	CG2R62	OG3R60	6.9830	1	0.00
OG3R60	CG2R62	CG2R62	CG2R61	6.4660	1	0.00
OG2D4	CG2R63	CG2R62	CG2R61	6.6820	1	180.00
CG2R62	CG2R62	OG3R60	CG2R62	6.9870	1	180.00
OG3R60	CG2R62	CG2R62	CG2R63	6.9920	1	180.00
CG2R62	CG2R63	CG2R62	HGR62	2.0760	1	180.00
CG2R61	CG2R61	CG2R61	CG2R62	3.3920	1	180.00
HGR62	CG2R62	CG2R62	OG3R60	5.4550	1	0.00
CG2R62	CG2R63	CG2R62	CG2R61	4.9930	1	0.00
HGR61	CG2R61	CG2R62	CG2R62	1.5680	1	0.00
CG2R62	CG2R63	CG2R62	CG2R62	6.9990	1	180.00
HGR61	CG2R61	CG2R62	CG2R63	6.9950	1	180.00

CG2R62	OG3R60	CG2R62	CG2R61	3.5640	1	0.00
HGR61	CG2R61	CG2R62	OG3R60	6.5150	1	180.00
HGR62	CG2R62	OG3R60	CG2R62	5.4310	1	180.00
CG2R61	CG2R61	CG2R62	CG2R62	7.0000	1	180.00
CG2R61	CG2R62	CG2R62	CG2R61	0.2860	1	0.00
CG2R61	CG2R61	CG2R62	CG2R63	6.9510	1	0.00
OG311	CG2R61	CG2R61	OG311	3.0000	1	180.00
CG2R67	CG2R61	CG2R61	OG311	3.1000	2	180.00
CG2R63	CG2R62	OG311	HGP1	0.9900	2	180.00
CG2R63	CG2R62	CG2R67	OG3R60	6.9920	1	180.00
CG2R67	CG2R62	OG311	HGP1	0.9900	2	180.00
CG2R62	CG2R61	OG311	HGP1	0.9900	2	180.00
CG2R67	OG3R60	CG2R62	CG2R61	3.5640	1	0.00
OG2D4	CG2R63	CG2R62	CG2R67	1.0000	2	180.00
OG2D4	CG2R63	CG2R62	OG311	6.6820	1	180.00
CG2R62	CG2R67	OG3R60	CG2R62	6.9870	1	180.00
CG2R67	OG3R60	CG2R62	CG2R62	6.9870	1	180.00
CG2R62	CG2R61	CG2R61	OG311	6.7460	1	0.00
OG311	CG2R61	CG2R62	CG2R62	1.5680	1	0.00
OG311	CG2R62	CG2R67	OG3R60	5.4550	1	0.00
OG311	CG2R61	CG2R62	CG2R63	6.9950	1	180.00
CG2R62	CG2R63	CG2R62	CG2R67	6.9990	1	180.00
CG2R62	CG2R63	CG2R62	OG311	2.0760	1	180.00
OG3R60	CG2R67	CG2R67	CG2R61	1.4190	2	180.00
CG2R67	CG2R67	OG3R60	CG2R62	0.8650	2	0.00
CG2R62	CG2R67	CG2R67	CG2R61	1.1370	2	180.00
OG311	CG2R62	CG2R67	CG2R67	3.6310	2	180.00
CG2R63	CG2R62	CG2R67	CG2R67	3.4910	2	180.00
CG2R62	OG3R60	CG2R63	CG2R62	6.9870	1	180.00
CG2R63	OG3R60	CG2R62	CG2R62	6.9870	1	180.00
OG3R60	CG2R63	CG2R62	CG2R62	6.9920	1	180.00
CG2R62	OG3R60	CG2R63	OG2D4	5.4310	1	180.00
HGR62	CG2R62	CG2R62	CG2R61	6.6820	1	180.00
OG3R60	CG2R63	CG2R62	HGR62	5.4550	1	0.00
CG2R62	CG2R62	CG2R62	OG3R60	6.9920	1	180.00
CG2R63	OG3R60	CG2R62	CG2R61	3.5640	1	0.00
CG2R62	CG2R62	CG2R62	CG2R61	6.9350	1	0.00
CG2R63	CG2R62	CG2R62	CG331	0.8300	3	0.00
CG331	CG2R62	CG2R62	CG2R61	0.8850	3	180.00
CG331	CG2R62	CG2R62	CG2R62	4.9990	3	0.00
CG2R61	OG311	CG331	HGA3	1.3900	1	0.00
CG2R67	CG2R67	CG2R62	HGR62	0.4680	1	0.00
CG2R61	CG2R61	OG311	CG331	2.9930	1	180.00
OG3R60	CG2R67	CG2R62	HGR62	1.2000	1	0.00
OG2D4	CG2R63	CG2R62	OG302	6.6820	1	180.00
OG302	CG2R61	CG2R61	CG2R67	3.1000	2	180.00
CG2R61	CG2R61	CG2R61	OG302	3.1000	2	180.00
CG2R62	CG2R61	CG2R61	OG302	6.7460	1	0.00
OG302	CG2R61	CG2R62	CG2R62	1.5680	1	0.00
HGR61	CG2R61	CG2R61	OG302	2.4000	2	180.00
OG302	CG2R61	CG2R62	CG2R63	6.9950	1	180.00
OG302	CG2R62	CG2R67	OG3R60	5.4550	1	0.00
CG2R62	CG2R63	CG2R62	OG302	2.0760	1	180.00
OG302	CG2R62	CG2R67	CG2R67	3.6310	2	180.00
OG302	CG2R61	CG2R61	OG302	1.7910	3	180.00
CG2R67	CG2R62	OG302	CG2O2	3.8060	1	180.00
CG2R67	CG2R62	OG302	CG2O2	4.9920	2	180.00
CG2R63	CG2R62	OG302	CG2O2	1.9960	1	180.00
CG2R63	CG2R62	OG302	CG2O2	4.9070	2	180.00

CG2R61	OG302	CG202	OG2D1	0.4110	1	180.00
CG2R61	OG302	CG202	OG2D1	0.4010	2	180.00
CG2R61	OG302	CG202	HGA1	0.7370	1	0.00
CG2R61	OG302	CG202	HGA1	4.7810	2	180.00
CG2R61	CG2R61	OG302	CG202	0.8650	3	180.00
CG2R61	CG2R61	OG302	CG202	4.8730	1	180.0
OG2D1	CG202	OG302	CG2R62	4.8980	1	0.00
OG2D1	CG202	OG302	CG2R62	4.5260	2	0.00
HGA1	CG202	OG302	CG2R62	3.4830	1	180.00
HGA1	CG202	OG302	CG2R62	2.5130	2	180.00
CG2R62	CG2R61	OG302	CG202	4.9800	1	180.00
CG2R62	CG2R61	OG302	CG202	3.6040	2	180.00
NG2S3	CG2R61	CG2R61	CG2R62	3.5820	3	0.00
OG311	CG2R61	CG2R61	NG2S3	0.0310	3	180.00
CG2R61	OG311	CC3162	OC3C61	0.0000	1	0.00
OG311	CC3162	CC3161	OC311	4.9220	4	0.00
OG311	CC3162	CC3161	OC311	6.9990	1	0.00
OG311	CC3162	OC3C61	CC3163	6.9980	1	180.00
OG311	CC3162	CC3161	HCA1	0.3470	4	180.00
OG311	CC3162	CC3161	HCA1	0.4160	3	180.00
OG311	CC3162	CC3161	HCA1	3.6970	1	0.00
OG311	CC3162	CC3161	CC3161	5.8020	1	0.00
CG2R61	OG311	CC3162	HCA1	2.6170	1	0.00
CG2R61	OG311	CC3162	HCA1	5.6490	2	180.00
CG2R61	OG311	CC3162	CC3161	2.2750	3	180.00
CG2R61	OG311	CC3162	CC3161	6.9800	2	180.00
CG2R61	CG2R61	OG311	CC3162	1.9050	2	180.00
CG2R61	OG311	CG331	HGA3	1.3900	1	0.00
CG2R67	CG2R67	CG2R62	HGR62	0.4680	1	0.00
CG2R61	CG2R61	OG311	CG331	2.9930	1	180.00
OG3R60	CG2R67	CG2R62	HGR62	1.2000	1	0.00
CG2R61	CC331	CC3163	OC3C61	0.663	1	180.00
CG2R61	CC331	CC3163	OC3C61	0.746	2	0.00
CG2R61	CG2R61	CG2R61	CC331	4.2000	2	180.00
CC331	CG2R61	CG2R61	CG2R62	6.7460	1	0.00
CG2R61	CC331	CC3163	HCA1	2.500	1	0.00
CG2R61	CC331	CC3163	HCA1	0.106	2	180.00
CG2R61	CC331	CC3163	CC3161	0.841	2	180.00
OG311	CG2R61	CG2R61	CC331	3.1000	2	180.00
CG2R61	CG2R61	CC331	HCA3	2.122	1	0.00
CG2R61	CG2R61	CC331	HCA3	0.150	2	180.00
CG2R61	CG2R61	CC331	CC3163	0.136	2	180.00
OG2D4	CG2R63	CG2R62	OC311	6.6820	1	180.00
OG3R60	CG2R67	CG2R62	OC311	5.4550	1	0.00
CG2R62	CG2R63	CG2R62	OC311	2.0760	1	180.00
CG2R67	CG2R67	CG2R62	OC311	3.6310	2	180.00
CG2R62	OC311	CC3162	HCA1	4.7230	1	180.00
CG2R62	OC311	CC3162	HCA1	1.2720	3	180.00
CG2R62	OC311	CC3162	HCA1	1.2270	2	180.00
CG2R62	OC311	CC3162	HCA1	3.8760	4	180.00
CG2R62	OC311	CC3162	CC3161	4.6220	1	0.00
CG2R62	OC311	CC3162	CC3161	1.1640	2	180.00
CG2R62	OC311	CC3162	CC3161	5.0230	4	180.00
CG2R67	CG2R62	OC311	CC3162	8.0000	1	180.00
CG2R67	CG2R62	OC311	CC3162	4.4790	2	180.00
CG2R67	CG2R62	OC311	CC3162	0.1290	6	180.00
CG2R63	CG2R62	OC311	CC3162	8.0000	1	0.00
CG2R63	CG2R62	OC311	CC3162	5.7210	2	180.00
CG2R62	OC311	CC3162	OC3C61	2.9060	1	180.00

CG2R62	OC311	CC3162	OC3C61	3.4780	2	180.00
CG2R62	OC311	CC3162	OC3C61	6.4070	4	180.00
NG2S3	CG2R61	CG2R62	OG3R60	6.5150	1	180.00
NG2S3	CG2R61	CG2R61	CG2R62	6.7460	1	0.00
NG2S3	CG2R61	CG2R62	CG2R62	1.5680	1	0.00
NG2S3	CG2R61	CG2R61	OG311	2.4000	2	180.00
CG2R62	CG2R61	NG2S3	HGP4	4.9340	3	180.00
OC3C61	CC3163	CG2R61	CG2R61	2.8360	1	0.00
CG2R61	CC3163	CC3161	OC311	2.9930	1	0.00
HGR61	CG2R61	CG2R61	CC3163	1.0790	1	0.00
CC3162	OC3C61	CC3163	CG2R61	0.7240	1	0.00
HCA1	CC3163	CG2R61	CG2R61	0.7960	1	0.00
CG2R61	CG2R61	CG2R61	CC3163	2.1320	1	0.00
CG2R61	CC3163	CC3161	HCA1	0.8380	1	0.00
CG2R61	CC3163	CC3161	CC3161	1.0400	1	0.00
CC3161	CC3163	CG2R61	CG2R61	1.6840	1	0.00
CC3163	CG2R61	CG2R61	CG2R62	2.6010	1	0.00

Referências Bibliográficas

- [1] M.P. Allen, D.J. Tildesley, Computer Simulation of Liquids, Oxford University Press, USA, 1989.
- [2] A. Leach, Molecular Modelling: Principles and Applications, 2 ed., Prentice Hall, 2001.
- [3] D. Frenkel, B. Smit, Understanding Molecular Simulation, Second Edition: From Algorithms to Applications, 2 ed., Academic Press, 2001.
- [4] B. Alder, T. Wainwright, Journal of Chemical Physics. 27 (1957) 1208-1209.
- [5] F. Stilling, A. Rahman, Journal of Chemical Physics. 60 (1974) 1545-1557.
- [6] J. McCammon, B. Gelin, M. Karplus, Nature. 267 (1977) 585-590.
- [7] P. van der Ploeg, H. Berendsen, Journal of Chemical Physics. 76 (1982) 3271-3276.
- [8] P. Bond, J. Holyoake, A. Ivetac, S. Khalid, M. Sansom, Journal of Structural Biology. 157 (2007) 593-605.
- [9] E. Lindahl, M. Sansom, Current Opinion in Structural Biology. 18 (2008) 425-431.
- [10] M. Karplus, J. McCammon, Nature Structural Biology. 9 (2002) 646-652.
- [11] S. Adcock, J. McCammon, Chemical Reviews. 106 (2006) 1589-1615.
- [12] J. Chen, C. Brooks, J. Khandogin, Current Opinion in Structural Biology. 18 (2008) 140-148.
- [13] M. Sotomayor, K. Schulten, Science. 316 (2007) 1144-1148.
- [14] D. Tieleman, S. Marrink, H. Berendsen, Biochimica Et Biophysica Acta-Reviews on Biomembranes. 1331 (1997) 235-270.
- [15] S. Marrink, A. de Vries, D. Tieleman, Biochimica Et Biophysica Acta-Biomembranes. 1788 (2009) 149-168.
- [16] J. Gumbart, Y. Wang, A. Aksimentiev, E. Tajkhorshid, K. Schulten, Current Opinion in Structural Biology. 15 (2005) 423-431.
- [17] C. Kandt, W. Ash, D. Tieleman, Methods. 41 (2007) 475-488.
- [18] Brooks, B. R., et al. J. Comput. Chem., v. 4, p. 187-217, 1983.
- [19] Van Gunsteren, W. F.; Berendsen, H. J. C. Biomol., Groningen, Netherlands, 1987.
- [20] [35] Phillips JC, Braun R, Wang W, Gumbart J, Tajkhorshid E, Villa E, Chipot C, Skeel RD, Kale L, Schulten K. J Comput Chem 2005;26:1781–1802. [PubMed: 16222654]
- [21] K. Vanommeslaeghe, E. Hatcher, C. Acharya, S. Kundu, S. Zhong, J. Shim, E. Darian, O. Guvench, P. Lopes, I. Vorobyov, A. D. MacKerell Jr., J. Comput. Chem. 2010, 31, 671-690. [24] A. Boldi, Current Opinion in Chemical Biology. 8 (2004) 281-286. [18] Weiner, S. J., et al. J. Comput.

Chem., v. 7, p. 230-252, 1986.

[22] Thomas A. Halgren, J. Comp. Chem.; 1996; 490-519.

[23]Halgren TA. J Comput Chem 1996;17(5-6):490-519

[24] Wang J, Wolf RM, Caldwell JW, Kollman PA, Case DA. J Comput Chem 2004;25:1157-1174
PubMed: 15116359

[25] [Wang JM, Wang W, Kollman PA, Case DA. J Mol Graphics Modelling 2006;25(2):247-260

[26] J. V. Formica, W. Regelson, Fd Chem. Toxic.. Vol. 33, No. 12, pp. 1061-1080, 1995 Elsevier Science Ltd. Printed in Great Britain

[27] Su-Yun Lyu, JeeYoung Rhim, and Won-Bong Park. Arch Pharm Res Vol 28, N. 11 1293-1301, 2005

[28] <http://bibliotecademedicina.com.br/blognutricao/?p=2561> Acesso em 25 de julho de 2014

[29] <http://centrodeartigo.com/emagrecimento/artigo-4682.html> Acesso em: 2 de outubro de 2014

[30] VICENTINI, F.T.M.C. Efeito fotoquimioprotetor de quercetina incorporada em microemulsão contra os danos na pele causados pela radiação ultravioleta. 2009. 173f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2009

[31] Rodrigues, Rafaella da Fonseca. Extração da cumarina a partir das sementes da emburana (*Torresea cearensis*) utilizando dióxido de carbono supercrítico. Campinas: Unicamp, 2005.

[32] Christopher G. Mayne,[a,b] Jan Saam,[a] Klaus Schulten,[a,c] Emad Tajkhorshid,[a,d] and James C. Gumbart; Journal of Computational Chemistry 2013, DOI: 10.1002/jcc.23422

[33] De Abreu, Heitor A. Estudo de sistemas químicos aplicando-se a teoria do funcional de densidade. UFMG, 2004.

[34] J. A. Nelder, R. Mead, Comput. J. 1965, 7, 308.

[35] W. H. Press, S. A. Teukolsky, W. T. Vetterling, B. P. Flannery, Numerical Recipes in C, 2nd ed.; Cambridge University Press: New York, 1992.

[36] Jorgensen WL, Chandrasekhar J, Madura JD, Impey RW, Klein ML. Journal of Chemical Physics 1983;79:926-935.

[37] BROGGIO COSTA S. T. Estudos Conformacionais por Dinâmica Molecular de Peptídeos Antimicrobianos da Família dos Mastoparanos em Misturas de TFE-água. 2006. 155 f. Tese (Doutorado)-Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas de São José do Rio Preto, Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, São José do Rio Preto, 2006.

[38] Cheatham TE III, Miller JL, Fox T, Darden TA, Kollman PA. Molecular dynamics simulations

on solvated biomolecular system: The Particle Mesh Ewald method leads to stable trajectories of DNA, RNA, and proteins. *J Am Chem Soc* 1995; 117:4193-94.

[39] E. Middleton, C. Kandaswami, T. Theoharides, *Pharmacological Reviews*. 52 (2000) 673-751.

[40] (Atkins, 2003)

[41] <http://mackerell.umaryland.edu/>

[42] [O. Guvench, A. D. MacKerell, Jr., *J. Mol. Model.* 2008, 14, 667–679..

[43] O. Guvench, A. D. MacKerell, Jr., *J. Mol. Model.* 2008, 14, 667–679.

[44] W. L. Jorgensen, J. Chandrasekhar, J. D. Madura, R. W. Impey, M. L.

Klein, *J. Chem. Phys.* 1983, 79, 926.

[45] M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H. P. Hratchian, A. F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J. L. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, J. A. Montgomery, Jr., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J. J. Heyd, E. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, J. M. Millam, M. Klene, J. E. Knox, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, V. G. Zakrzewski, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, S. Dapprich, A. D. Daniels, Ø. Farkas, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, J. Cioslowski, D. J. Fox. Gaussian 09 Revision B.01; Gaussian Inc.: Wallingford, CT, 2009. [41] A. D. MacKerell, Jr., D. Bashford, M. Bellott, R. L. Dunbrack, Jr., J. D. Evanseck, M. J. Field, S. Fischer, J. Gao, H. Guo, S. Ha, D. Joseph, L. Kuchnir, K. Kuczera, F. T.K. Lau, C. Mattos, S. Michnick, T. Ngo, D. T. Nguyen, B. Prodhom, I. W.E. Reiher, B. Roux, M. Schlenkrich, J. Smith, R. Stote, J. Straub, M. Watanabe, J. Wiorkiewicz-Kuczera, D. Yin, M. Karplus. *J. Phys. Chem. B* 1998, 102, 3586. [42] S. K. Burger, M. Lacasse, T. Verstraelen, J. Drewry, P. Gunning, P. W. Ayers, *J. Chem. Theory Comput.* 2012, 8, 554

[46] Wang, J.; Wolf, R. M.; Caldwell, J. W.; Kollman, P. A.; Case, D. A. *J Comput Chem* 2004, 25, 1157

[47] D. Kingston, D. Newman, *Current Opinion in Drug Discovery & Development*. 5 (2002) 304-316.

[48] T. Yamamoto, M. Yoshimura, F. Yamaguchi, T. Kouchi, R. Tsuji, M. Saito, et al., *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*. 68 (2004) 1706-1711.

[49] E. Middleton, C. Kandaswami, *Biochemical Pharmacology*. 43 (1992) 1167-1179.

[50] H. Mastuda, T. Morikawa, K. Ueda, H. Managi, M. Yoshikawa, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 10 (2002) 3123-3128.

Autorizo a reprodução xerográfica para fins de pesquisa.

São José do Rio Preto, 18 / 11 / 2014

Carolina Penhavel de Souza
Assinatura