Universidade de São Paulo Instituto de Física

Estudo de Propriedades Estruturais e Hiperfinas em Complexos Metálicos

Rafael Rodrigues do Nascimento

Orientadora: Profa. Dra. Helena Maria Petrilli

Tese de doutorado apresentada ao Instituto de Física para a obtenção do título de Doutor em Ciências

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Profa. Dra. Helena Maria Petrilli (IFUSP)
Profa. Dra. Kaline Rabelo Coutinho (IFUSP)
Profa. Dra. Wanda Valle Marcondes Machado (IFUSP)
Prof. Dr. Jorge Chahine (UNESP)
Prof. Dr. Mauricio Domingues Coutinho Neto (UFABC)

São Paulo 2014

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

Nascimento, Rafael Rodrigues do

Estudo das propriedades estruturais e hiperfinas em complexos metálicos. São Paulo, 2014.

Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo. Instituto de Física. Depto. de Física dos Materiais e Mecânica.

Orientador: Profa. Dra. Helena Maria Petrilli

Área de Concentração: Física da Matéria Condensada

Unitermos: 1. Complexos metálicos; 2. DNA; 3. Estrutura eletrônica; 4. Dinâmica molecular; 5. Interação hiperfina.

USP/IF/SBI-056/2014

"Quando você atravessar as águas, Eu estarei com você. Quando você atravessar os rios, eles não o encobrirão. Quando você andar através do fogo, não se queimará. As chamas não o deixarão em brasas. Pois Eu sou o Senhor, o seu Deus, o Santo de Israel, o seu Salvador..." Isaías 43.2-3b

Dedico a Deus e à minha família

Agradecimentos

Ebenézer! Agradeço a Deus por que até aqui cheguei! Pela saúde, paz, força e esperança que só Ele pode oferecer por meio de muitas pessoas que me acompanharam durante esta caminhada. Em especial, quero agradecer e lembrar aqui algumas delas:

À minha família que me incentivou a prosseguir, mesmo as vezes cansado e desanimado, dando o exemplo a não desistir ainda que em circunstâncias adversas. Meus pais, mesmo sem entender o meu trabalho, me impulsionaram a ter visão de um futuro melhor.

À minha namorada Flávia, musa inspiradora e descanso em todas as fases durante este trabalho.

À minha orientadora, Profa. Helena Maria Petrilli, com nervos de aço teve força de buscar novos horizontes científicos, além do que ela mesma já tinha andado, acreditando em todos os seus alunos. A ela que com paixão discutiu e comemorou os resultados alcançados nesta tese.

Ao Prof. Leonardo Errico que muito contribuiu nas discussões e nas análises do trabalho relacionado ao Gradiente do Campo Elétrico de *Crown thioethers* coordenadados à Prata e ao Cadmio. Aprendi muito com seu entusiasmo e sua dedicação na pesquisa científica.

Às Profas. Ana Maria da Costa Ferreira e Vera R. L. Constantino juntamente com seus grupos experimentais no Instituto de Química da USP, pelos desafios lançados nos estudos computacionais de complexos de cobre e suas interações com o DNA. Agradeço ao trabalho em grupo, pelas discussões e propostas que enriqueceram a tese e o meu desenvolvimento como pesquisador.

Ao Prof. Paolo Carloni e seu grupo computacional *German Research School for Simulation Science* onde muito aprendi durante o doutorado sanduíche em Jülich, Alemanha. Agradeço pela colaboração e propostas na investigação da interação complexos de cobre com DNA. Em especial, aos pesquisadores Jens Dreyer e Emiliano Ippoliti que tiveram muita paciência e não economizaram esforços para me ensinar dinâmica molecular e metadinâmica. Ao Prof. Lucas Ducati, do Instituto de Química da USP, pelo compartilhar de sua experiência na área de cálculos hiperfinos utilizando o código computacional ORCA.

Ao Fernando Küsel, funcionário do CENAPAD-UNICAMP, pela sua paciência comigo ao ensinar os passos infindáveis da compilação do código computacional CP-PAW.

Aos colegas do grupo NANOMOL que muito contribuíram em discussões e suporte técnico durante o decorrer da tese. Ao Leonardo Marion, ao Max e ao Rodrigo que devido a vasta experiência que tinham prontamente me auxiliaram nos detalhes técnicos. Aos alunos da Profa. Helena do doutorado Filipe Dalmatti e Philippe Petersen que me ajudaram a resolver vários problemas técnicos e discutir conceitos que contribuíram para o desenvolvimento da tese. Em especial, agradeço ao Marcos Brown que muito me ajudou cientificamente no Brasil e na Alemanha na parametrização dos complexos de cobre e em muitas discussões relevantes que vieram deste assunto. Em geral, a todos os colegas do IFUSP pelo companheirismo e amizade durante este tempo.

Às nossas secretárias Sandra Rodrigues e Rosana Gimenes sempre dispostas a ajudar e facilitar a minha vida acadêmica. Além disso, não posso me esquecer de agradecer à todos os funcionários e funcionárias da Comissão de Pós-Graduação do Instituto de Física – CPG-IFUSP, que prontamente me atendiam e tiravam todas as minhas dúvidas quanto aos trâmites e papeladas durante o tempo de doutorado.

Às agências financiadoras Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq e o Programa Ciência Sem Fronteiras que forneceram as bolsas e os recursos financeiros para a realização deste doutorado e também o estágio de doutorado sanduíche por 6 meses na Alemanha.

Resumo

O estudo computacional da interação de biomoléculas com metais de transição é bastante desafiador. Sendo assim, investigamos computacionalmente diferentes propriedades eletrônicas, estruturais e hiperfinas de complexos metálicos, a saber: a) o gradiente do campo elétrico de Crown thioethers coordenados à Ag e ao Cd e comparado com as medidas da técnica espectroscópica Time Differential Perturbed Angular Correlation durante o decaimento nuclear ${}^{111}Ag \rightarrow {}^{111}Cd$; b) o acoplamento hiperfino no metal coordenado à bases de Schiff e comparado com as medidas de ressonância eletrônica paramagnética durante o equilíbrio ceto-enol; c) a interação termodinâmica entre o complexo $[Cu(isaenim)]^{2+}$ e o sulco menor do DNA, por meio da dissociação do complexo supramolecular [Cu(isaenim)]²⁺-DNA, comparada com a energia livre experimental fornecida pela constante de equilíbrio de formação deste sistema; e d) por meio do cálculo do acoplamento hiperfino realizamos alguns passos na direção da caracterização teórica do complexo supramolecular no estado ligado. Utilizamos a teoria do funcional da densidade no esquema de Kohn-Sham para obter as propriedades hiperfinas eletrônicas e magnéticas dos complexos metálicos. No estudo do equilíbrio ceto-enol utilizamos simulações de dinâmica molecular clássica e híbrida QMMM para estimar as distancias Cu-O^{água}. No caso do complexo supramolecular [Cu(isaenim)]²⁺-DNA, simulações de dinâmica molecular e metadinâmica clássica foram utilizadas para propor uma rota de reconhecimento molecular em um oligômero de DNA.

Abstract

Computational study of the interaction of biomolecules with transition metals is very challenging. Thus, we have investigated different electronic, structural and hyperfine properties of the metal complexes: a) the electric field gradient properties of Crown thioethers coordinated with Ag and Cd and compared to Time Differential Perturbed Angular Correlation measurements during ${}^{111}Ag \rightarrow {}^{111}Cd$ nuclear decay; b) the hyperfine coupling in the metal of *Schiff* basis coordinated with copper and compared to electronic paramagnetic resonance measurements during the keto-enol equilibrium; c) the thermodynamic interaction between [Cu(isaenim)]²⁺ complex and the DNA minor groove, by the dissociation of this supramolecular complex, comparing its free energy experimental provided by the formation constant; and d) through the calculation of the hyperfine coupling in the Cu, we characterized the bound state of this supramolecular complex. We used the density functional theory in the Kohn-Sham scheme in order to obtain the electric and magnetic hyperfine properties of the metal complexes. In the keto-enol equilibrium study, we used classic and OMMM molecular dynamics to estimate the Cu-O^{water} distances. Regarding [Cu(isaenim)]²⁺-DNA system, classical molecular dynamics and metadynamics simulations were used to propose a molecular recognition route in a DNA oligomer.

Sumário

AGRAI	DECIME	NTOS4
RESUN	10	
ABSTR	RACT	7
CAPÍT	ULO 1	
INTRO	DUÇÃO	
1.1.	Complex	os metálicos e o gatilho apoptótico13
1.2.	Bases de	Schiff coordenadas ao Cobre14
1.3.	Crown th	ioethers coordenados à Prata e ao Cádmio18
CAPÍT	ULO 2	
METO	DOLOGI	A22
2.1.		
	Mecânica	۶ Molecular Clássica 22
	Mecânic 2.1.1.	a Molecular Clássica
	Mecânic 2.1.1. 2.1.2.	a Molecular Clássica
	Mecânica 2.1.1. 2.1.2. 2.1.3.	a Molecular Clássica
	Mecânica 2.1.1. 2.1.2. 2.1.3. 2.1.4.	a Molecular Clássica 22 Condições iniciais e Dinâmica Molecular Clássica 25 Ensembles estatísticos 27 Eventos Raros 31 Metadinâmica 31
2.2.	Mecânica 2.1.1. 2.1.2. 2.1.3. 2.1.4. Aproxima	a Molecular Clássica
2.2. 2.3.	Mecânica 2.1.1. 2.1.2. 2.1.3. 2.1.4. Aproxima	a Molecular Clássica
2.2. 2.3.	Mecânica 2.1.1. 2.1.2. 2.1.3. 2.1.4. Aproxima Teoria da 2.3.1.	a Molecular Clássica 22 Condições iniciais e Dinâmica Molecular Clássica 25 Ensembles estatísticos 27 Eventos Raros 31 Metadinâmica 31 ação de Born-Oppenheimer 34 > Funcional da Densidade 36 Teoremas de Hohenberg e Kohn 36

2.4.	Funções d	e Base	40
	2.4.1.	Funções de Base de Ondas Gaussianas	40
	2.4.2.	Funções de Base de Ondas Planas	41
	2.4.3.	Funções de Base de Onda Aumentada	42
2.5.	Dinâmica	Molecular de Primeiros Principios de Car-Parrinello	46
	2.5.1.	Dinâmica Molecular de Car-Parrinello Híbrida CP/MM	49
CAPÍT	ULO 3		52
INTER	AÇÃO HI	PERFINA	52
3.1.	Interação	Hiperfina Elétrica	52
3.2.	Interação	Hiperfina Magnética	56
CAPÍT	ULO 4		64
RESUL	TADOS E	E DISCUSSÕES	64
4.1.	Estudo co	mputacional de Crown thioethers coordenados à Prata e ao Cádmio	64
	4.1.1.	Dados experimentais da literatura	64
	4.1.2.	Procedimento computacional	66
	4.1.3.	Análise estrutural	68
	4.1.4.	A influência do contra-íon	71
	4.1.5.	Análise do Gradiente do Campo Elétrico	73
4.2.	Caracteriz	ação estrutural e acoplamento hiperfino de complexos de Cobre	79
	4.2.1.	Análise Estrutural do complexo de Cobre [Cu(isaenim)] ^{2+/+}	79
	4.2.1.1.	Análise Estrutural no vácuo	79
	4.2.1.2.	Análise estrutural no solvente explícito	82
	4.2.1.2.1	 Dinâmica Molecular Clássica para o complexo [Cu(isaenim)]²⁺ em solvente explí 	cito
	42122	oz Dinâmica Molecular Híbrida OMMM para o compleyo [Cu/isaenim)] ²⁺ em solver	nte
	explícito	87	
	4.2.1.2.3	 Análise estrutural do equilíbrio Ceto-Enol do complexo [Cu(isaenim)]^{2+/+} 	92
	4.2.2.	Análise do Acoplamento Hiperfino	94

4.2.2	.1. Acoplamento Hiperfino do $[CuCl_4]^{2^-}$
4.2.2	.1.1. Dados experimentais da literatura
4.2.2	a.1.2. Cálculo do Acoplamento Hiperfino no Cu para o complexo $[CuCl_4]^{2-}$ na simetria D_{4h} 96
4.2.2	.2. Acoplamento Hiperfino no Equilíbrio Ceto-Enol do complexo [Cu(isaenim)] ^{2+/+}
4.3. Estudo	o da interação de ligantes orgânicos e do complexo [Cu(isaenim)] ²⁺ no sulco menor de um
oligômero de DI	IA
4.3.1	. Simulação de dinâmica molecular clássica de um oligômero de DNA em solvente
explic	ito 103
4.3.2	. Simulação da dissociação de ligantes orgânicos no sulco menor de um oligômero de
DNA	105
4.3.2	.1. Simulações de dinâmica molecular clássica dos complexos supramoleculares DST-DNA e
FUR-	DNA 107
4.3.2	2.2. Dissociações dos complexos supramoleculares DST-DNA e FUR-DNA
4.3.3	Simulação da Dissociação do complexo supramolecular [Cu(isaenim)] ²⁺ -DNA 119
4.3.3	1. Simulação de dinâmica molecular clássica do sistema CIE-DNA
4.3.3	.2. Dissociação do complexo supramolecular CIE-DNA 123
4.3.4	. Cálculo do acoplamento hiperfino no Cu para o complexo [Cu(isaenim)] ²⁺ inserido no
sulco	menor do DNA 125
ΓΑΡ ΊΤΙΙΙ Ο 5	130
CAI II ULU J	
CONCLUSÕE	S 120
CONCLUSUE	5
CAPÍTULO 6	135
REFERÊNCIA	IS
APÊNDICES.	
А.	Construção dos inputs para a Equilibração e Dinâmica Molecular Clássica do complexo
[Cu(is	aenim)] ²⁺
В.	Construção dos arquivos iniciais da simulação de dinâmica molecular QMMM do
comp	lexo [Cu(isaenim)] ²⁺ em solvente explicito
С.	Construção dos inputs para a Equilibração e Dinâmica Molecular Clássica de um
oligô	nero de DNA sob solvatação explicita149

D.	Construção dos inputs para a E	quilibração e Dinâmica Molecular Clássica dos complexos
supram	oleculares DST-DNA e FUR-DNA.	

ANEXO	
А.	Caracterização estrutural e ótica dos complexos dos [Cu(pyalen)] ²⁺ e [Cu(apzpn)] ²⁺ 153

Capítulo 1

Introdução

Segundo E. Frieden [1,2] cerca de 92% da matéria seca do corpo humano é constituída pelos elementos químicos: carbono (C), hidrogênio (H), oxigênio (O), nitrogênio (N), fósforo (P) e enxofre (S). A manutenção da vida celular exige a combinação química dos elementos químicos C, N, O, H, P e S em moléculas denominadas nucleotídeos e aminoácidos [3]. Os nucleotídeos, quando organizados em forma de cadeias, constituem o Ácido Desoxirribonucleico (*DeoxyriboNucleic Acid* – DNA) e o Ácido Ribonucleico (*RiboNucleic Acid* – RNA) envolvidos na expressão e replicação da informação genética. Os aminoácidos, por sua vez, quando organizados em forma de cadeias denominadas peptídeos, proteínas ou enzimas, desempenham diversas funções nos organismos vivos como catálises de reações químicas importantes para a vida.

Embora os elementos metálicos como manganês (Mn), ferro (Fe), cobalto (Co), cobre (Cu), zinco (Zn), molibdênio (Mo), vanádio (V) e crômio (Cr) estejam presentes em pequenas concentrações no corpo humano, cerca de 30% das proteínas conhecidas são dependentes destes metais [4]. Os metais, quando coordenados à um ambiente protéico, desempenham funções essenciais de maneira concertada e controlada pela célula. Principalmente os metais de transição Fe, Co, Cu, Zn e Mn, quando coordenados em sítios ativos de proteínas, desempenham papéis fundamentais em reações de oxirredução, em coordenações estruturais e na transferências de elétrons em reações químicas [2,4].

Por outro lado, a grande reatividade dos íons metálicos livres é preocupante, pois, se o estresse oxidativo no meio celular não for adequadamente controlado, a célula entra em processo apoptótico, ou seja, morte celular programada [4].

1.1. Complexos metálicos e o gatilho apoptótico

Devido ao grande poder de redução, os íons metálicos livres dentro de organismos vivos geram espécies reativas de oxigênio (EROs) por meio da redução parcial da molécula de oxigênio. Dentre as principais EROs estão os radicais superóxido, peróxido de hidrogênio, dioxigênio singleto e a hidroxila, que promovem o estresse oxidativo, pelo qual ocorre um desequilíbrio entre agentes oxidantes e redutores no meio intracelular. Os principais danos ocorridos devido à produção de EROs em sistemas biológicos são a destruição dos centros metálicos de proteínas, a oxidação da cadeia lateral de aminoácidos e danos oxidativos à cadeia de DNA. Se a célula não conseguir realizar o reparo dos danos ocasionados ao DNA ou às proteínas essenciais, o processo de morte celular programada ou apoptose é iniciado.

De maneira geral, os danos oxidativos ocasionados por íons metálicos podem ser controlados quando os metais estão coordenados com ligantes que modulam a geração de EROs, diminuindo a interação do metal com as organelas celulares. A utilização de ligantes apropriados pode potencializar clivagens através de interações localizadas dos complexos metálicos (ligante+metal) no DNA ou nas proteínas, levando à apoptose celular.

A apoptose celular acontece no ciclo celular normalmente em células que estão velhas demais ou apresentam danos irreparáveis para desempenhar funções nos tecidos ou nos órgãos do corpo humano. Quando células normais de alguma maneira se tornam células cancerígenas, o principal gatilho apoptótico é perdido e estes tumores "esquecem" de morrer, ou seja, não tem uma morte programada. A ideia de que complexos metálicos podem ocasionar injúrias irreparáveis no DNA, e então serem os responsáveis por puxarem o gatilho do processo apoptótico celular, fomentou o interesse científico no desenho e caracterização de novos metalofármacos utilizados no combate ao câncer.

Dentre as principais características utilizadas para avaliar um potencial metalofármaco antitumoral são as capacidades de complexar o íon metálico, atravessar membranas e de promover injúrias específicas ao DNA ou às proteínas essenciais à vida celular. O metalofármaco antitumoral mais conhecido e utilizado no combate ao câncer é a cisplatina, que apresenta algumas das características acima que satisfazem a sua aplicação

até os dias de hoje. Entretanto, devido à platina (Pt) ser um metal exógeno, ou não natural, o corpo humano não possui proteínas específicas para a devida administração deste íon metálico, o que ocasiona o aumento da resistência ao medicamento. É sabido que somente 1% da cisplatina administrada interage realmente com o DNA, e a alta resistência ocasionarão não somente apoptose celular das células cancerígenas, mas também níveis altos de intoxicação no corpo humano.

Dentre os íons de metais de transição mais abundantes no corpo humano está o Cu, e, como era de se esperar, a existência de proteínas específicas para a administração deste metal o torna a escolha natural para o desenho de metalofármacos. Uma vez escolhido o íon metálico, o desenho de metalofármacos envolve a escolha de uma molécula ligante, capaz de coordenar o metal formando um complexo metálico estável e que tenha uma especificidade direcionada a um alvo molecular. Escolhemos estudar os ligantes baseados nas bases de *Schiff*.

1.2. Bases de Schiff coordenadas ao Cobre

As bases de *Schiff* são ligantes capazes de formar complexos estáveis com a maioria dos metais de transição [5] e, devido à sua capacidade de modular a ligação com o íon metálico em diferentes estados de oxidação, elas podem ser usadas para mimetizar sítios ativos de proteínas [6,7] e no desenho de metalofármacos, estes ligantes orgânicos podem modular o grau de dano oxidativo em biomoléculas como o DNA e as proteínas [8,9]. Além disso, outra característica importante a respeito das bases de *Schiff* é a estabilidade do cobre frente a competição com ligantes fisiológicos como a proteína albumina, conforme verificado tanto experimentalmente quanto teoricamente por meio de cálculos da energia de ligação [10,11]. Portanto, em razão da grande estabilidade da coordenação do cobre com bases de *Schiff*, estes complexos metálicos são uma excelente escolha para o desenho de metalofármacos.

A Figura 1-1 mostra em azul o grupo funcional formado da reação de um aldeído (ou cetona) e uma amina primária [5], sendo que os grupos R representam cadeias carbônicas.



Figura 1-1. Representação do grupo funcional base de Schiff.

O grupo da Profa. Ana Maria da Costa Ferreira, do Instituto de Química da Universidade de São Paulo (IQ-USP), tem trabalhado na síntese, na caracterização e no estudo da atividade biológica frente a interação de complexos de cobre, utilizando bases de Schiff, com biomoléculas. Alguns destes complexos metálicos são capazes de atravessar a membrana celular e, dentro da célula, os seus principais alvos são o DNA e a mitocôndria [8,12]. O DNA é um alvo em potencial para a ligação de complexos metálicos catiônicos devido à sua constituição em sítios aniônicos e bases nitrogenadas (sítios de oxigênio e nitrogênio), e da sua organização em hélice de sua fita dupla, que origina o surgimento de dois tipos de sulcos "grooves" disponíveis para a interação: os sulcos maior e menor (major e minor grooves). Nestas cavidades, as bases são expostas ao meio e estão propensas à intercalação de complexos metálicos por meio de interações eletrostáticas e/ou por ligações de hidrogênio [8,13]. Através de processos oxidativos, as ligações de complexos metálicos ocasionam a quebra das ligações, denominadas clivagens da fita simples ou dupla [8]. A difícil reparação celular de processos de clivagem do DNA faz com que a célula entre em processo apoptótico. Na mitocôndria, estes complexos interrompem a síntese de ATP, induzindo à apoptose celular [12].

Existem diversos tipos de complexos metálicos estudados pela comunidade científica em busca de mecanismos de ação contra células cancerígenas, nos quais a atividade redutora ou oxidativa, como observado experimentalmente em complexos de cobre, pode ocasionar a quebra da ligação fosfodiéster do DNA ou a hidrólise do açúcar

quando ligados aos sulcos menor ou maior. Para entender onde e como acontece a ligação dos complexos metálicos no DNA, diversos estudos foram propostos na literatura [10,13–15], como, por exemplo, o do complexo [Cu(X-phen)_n], onde phen=1,10-phenantrolina, sugerindo que a preferência da ligação ocorra sobre a sequência de nucleotídeos TAT no sulco menor do DNA [14–17]. O mecanismo de reação proposto para o [Cu(X-phen)_n] é tal que, depois de reduzir o metal a Cu⁺, o complexo se liga ao DNA e ocorre a formação de EROs, seguido do ataque oxidativo no açúcar do DNA devido a oxidação do cobre para +2 por H₂O₂ [14].

Este trabalho tem por objetivo final investigar as primeiras etapas do mecanismo de ligação do complexo [Cu(isaenim)]²⁺ no sulco menor do DNA. Para isto, primeiramente, estudamos a coordenação do cobre no complexo [Cu(isaenim)]²⁺ isolado no vácuo e sob solvatação explícita, de modo a reproduzir as propriedades estruturais e o acoplamento hiperfino magnético observados experimentalmente. Validamos as distâncias de coordenação do cobre com os átomos do ligante isaenim, utilizando como referência a otimização geométrica no vácuo de um complexo com características estruturais similares e que tem as suas posições atômicas determinadas por espectroscopia de Raios-X. [18] Investigamos a influência do solvente explícito no equilíbrio ácido-base, mostrado na Figura 1-2, para o complexo $[Cu(isaenim)]^{2+/+}$, de modo a reproduzir o acoplamento hiperfino no cobre obtido pelo grupo experimental através da técnica de Ressonância Paramagnética Eletrônica (Electron Paramagnetic Resonance - EPR) [8,19]. A variação considerável no valor do acoplamento hiperfino do cobre ocorreu devido ao aumento do pH do meio para valores maiores que 7,2, o que desprotonou o nitrogênio da isatina, deslocando o equilibro no sentido da formação da espécie enol do complexo [Cu(isaenim)]⁺. Para valores de pH menores que 7,2, o espectro EPR indicou que ambas as formas ceto e enol estavam presentes na solução. Designamos aqui o termo equilíbrio ácido-base ou reação de desprotonação da amina secundária como equilíbrio ceto-enol, conforme indicado na referência [8,19]. A investigação teórica do acoplamento hiperfino do cobre no complexo [Cu(isaenim)]^{2+/+} foi importante para encontrarmos a correta coordenação do metal com o solvente e, futuramente, corrigir os parâmetros do campo de força clássico do cobre utilizados em dinâmica molecular.



Figura 1-2. Equilíbrio ceto-enol do complexo [Cu(isaenim)]^{2+/+}. Figura retirada da tese de doutorado de Vivian Chagas da Silveira [19].

No estudo do reconhecimento molecular do complexo [Cu(isaenim)]²⁺ no sulco menor do DNA, investigamos as interações eletrostática e de *Van der Waals* dos estados intermediários durante a dissociação deste complexo supramolecular. Validamos nossos resultados a partir da estimativa da energia livre, calculada pela diferença entre os estados ligado e não ligado e comparando-a com a energia livre de ligação, derivada da constante de equilíbrio, obtida pelo grupo experimental [20]. Além disso, a partir da investigação da região de mínima energia livre de dissociação, calculamos o acoplamento hiperfino no metal para a estrutura do complexo [Cu(isaenim)]²⁺ ligada ao sulco menor do DNA. As medidas de EPR do complexo supramolecular [Cu(isaenim)]²⁺-DNA obtidas pelo grupo da Profa. Ana Maria (IQUSP) mostraram não haver nenhuma mudança significativa do tensor acoplamento hiperfino quando o complexo está ligado ao sulco menor. Entretanto, o grupo experimental está reinvestigando o complexo supramolecular [Cu(isaenim)]²⁺-DNA, até o presente momento, por meio de experimentos de espectroscopia de massa e de EPR, com o intuito de caracterizar os estados intermediários de ligação do complexo metálico.

Um terceiro estudo foi realizado em conjunto com os grupos experimentais das Profas. Ana Maria da Costa Ferreira e Vera R. L. Constantino (IQUSP), no âmbito da liberação controlada de fármacos, em que promovemos a caracterização estrutural e ótica sob diferentes estados de oxidação dos complexos [Cu(pyalen)]²⁺ e [Cu(apzpn)]²⁺ no vácuo [21]. Os resultados referentes à caracterização espectroscópica destes dois complexos [Cu(pyalen)]²⁺ e [Cu(apzpn)]²⁺ e [Cu(apzpn)]²⁺ no vácuo são apresentados somente no Anexo A, devido ao enfoque dado nesta tese para a caracterização do acoplamento hiperfino no cobre para o complexo [Cu(isaenim)]^{2+/+}, e de sua interação com o DNA.

1.3. Crown thioethers coordenados à Prata e ao Cádmio

A apoptose celular também pode ser promovida através de radiofármacos, complexos metálicos constituídos de metais radioativos, que quando próximos à célula cancerígena, mantêm uma exposição local e direcionada de radiação, conforme ilustrado na Figura 1-3.



Figura 1-3. Ilustração da atuação de radiofármacos no combate a células cancerígenas. Figura retirada do site <u>http://www.sciencenewsline.com/articles/2013120318380033.html</u>, último acesso 17/02/2014.

Portanto, o estudo da coordenação do íon metálico é importante no desenho de novos radiofármacos, de maneira que o ligante não libere o metal no ambiente. Como proposta de potenciais radiofármacos, os ligantes macrociclos tioéteres de coroa, ou *Crown thioethers*, coordenados a metais pesados, têm sido estudados experimentalmente por diversos pesquisadores [22–25].

Os *Crown thioethers* foram sintetizados pela primeira vez por J. R. Meadow e E. E. Reid em 1934 [26], e desde então sua categoria macrociclos similares possui uma nomenclatura própria, descrita na literatura pelo número dos átomos de grande afinidade

por metais, a saber S, O e N, e pelos átomos do anel, desconsiderando os hidrogênios. Por exemplo, o primeiro *Crown thioether* sintetizado por J. R. Meadow e E. E. Reid [26] foi chamado de 18S6, pois possuí um anel de 18 átomos, sendo 6 destes enxofres. Em outro caso semelhante, o *Crown thioether* 9S3 é um macrociclo com um anel de 9 átomos, sendo 3 enxofres. A Figura 1-4 mostra as representações dos *Crown thioethers* 18S6 e 9S3.



Figura 1-4. Esquema da nomenclatura utilizada para os *Crown thioethers*. Fórmulas estruturais condensadas lineares dos compostos 1886 e 983.

Trinta anos após a síntese de J. R. Meadow e E. E. Reid em 1934, novas sínteses foram realizadas de macrociclos constituídos de oxigênio, *Crown ethers*, e de enxofre, *Crown thioethers*, coordenados a metais alcalinos, alcalino terrosos e a níquel, fazendo ressurgir interesse sobre o assunto na comunidade científica [27–29]. Entretanto, as poderosas propriedades de coordenação de metais pesados dos *Crown thioethers* permaneceram inexploradas até o trabalho de D. Black e I. A. McLean [30] em 1969, que mostrou que os *Crown thiothers* possuem o enorme potencial para coordenar metais de transição, devido à maior afinidade dos átomos de enxofre, quando comparado ao oxigênio, e a sua geometria mais flexível em relação aos *Crown ethers*.

Em 1987, a partir das descobertas de Charles Pedersen, laureado com o prêmio Nobel de Química pela sua grande contribuição na área de química de coordenação, oriunda de estudos de coordenação do *Crown ether* com íons e sais, uma busca científica foi iniciada pela descoberta de novos ionóforos capazes de atravessar membranas, como a membrana celular, carregando íons metálicos. Os *Crown thioethers* são ligantes capazes de atuar como agentes carreadores de metais pesados no meio industrial e ambiental, devido a grande estabilidade da coordenação dos átomos de enxofre com metais de transição. Os *Crown thioethers* ainda apresentam grande utilização na indústria, na separação de metais pesados, e na área ambiental, na desintoxicação de metais de transição como Ni(II), Co(II), Ir(III), Cu(II), Pd(II), Ru(II), Pt(II), Rh(I/III) e Ag(I) [22,25,31–39]. A seletividade por íons metálicos está ligada ao tamanho do anel e à afinidade dos átomos coordenantes com o metal.

Com a intenção de desenvolver radiofármacos, A. Blake et al. [25] e R. Alberto et al. [24] realizaram o estudo estrutural dos Crown thioethers 9S3, 18S6, 19S6-OH e 20S6-OH coordenados com a Ag, sendo que o símbolo -OH representa um grupo hidroxila ligado ao anel. O Crown thioether coordenado com a Ag radioativa, uma vez próximo à célula cancerígena, mantem uma exposição local e direcionada de radiação β [40]. O decaimento nuclear ${}^{111}Ag \rightarrow {}^{111}Cd$ emite uma radiação β e dois raios γ que podem ser utilizados para tratar tecidos de espessura de alguns milímetros, o que é extremamente eficiente no tratamento de células cancerígenas. A radiação β ocasiona lesões no DNA e em organelas vitais das células cancerígenas, levando a apoptose celular. Entretanto, os estudos experimentais mostraram que os complexos Ag(19S6-OH) e Ag(20S6-OH) não são solúveis em água [24]. A solubilidade em água é extremamente importante para aplicações de fármacos no corpo humano, para que a administração dos complexos seja eficiente e também ocorra a excreção adequada. Os complexos menores, como 12S4, são solúveis em água e podem ser utilizados para aplicações biológicas ou para o desenvolvimento de radiofármacos, como a desintoxicação de cobre no tratamento da doença de Wilson [23] e alguns protótipos de drogas contra o câncer, coordenadas com outros metais [37,41].

O efeito estrutural após o decaimento nuclear ${}^{111}Ag \rightarrow {}^{111}Cd$ na coordenação metálica dos enxofres nos *Crown thioethers* foi estudado somente após os trabalhos de W. Tröger e B. Ctortecka [24,42]. Uma maneira de inferir a coordenação com metais, proposta por Tröger, é feita através da técnica espectroscópica *Time Differential Perturbed Angular Correlation* (TDPAC) [40]. A técnica TDPAC mede a frequência nuclear de quadrupolo, ω_Q , que é a perturbação ou interação hiperfina elétrica sentida pelo núcleo devido ao decaimento nuclear e está relacionada com V_{zz} , a maior componente do tensor do Gradiente do Campo Elétrico (GCE). Em 2004, F. Heinrich *et al.* [42] propuseram estudar teoricamente, através de cálculos quânticos, os *Crown thioethers* 18S6, 19S6-OH e 20S6-OH, coordenados com Ag, com o intuito de correlacionar o tensor GCE calculado com as medidas de TDPAC feitas por B. Ctortecka [43]. Entretanto, F. Heinrich e colaboradores deveriam realizar cálculos com o *Crown thioethers* coordenados com o Cd, pois a medida TDPAC acontece quando a Ag já decaiu para Cd, como dito anteriormente. Para esclarecer o equívoco de F. Heinrich e colaboradores, realizamos um primeiro estudo computacional mostrando que a medida TDPAC exibe frequências associadas à perturbação do átomo de Ag decaído, ou seja, de Cd, para o complexo Ag(9S3)Cl [44]. Sendo assim, nesta tese revisitamos o problema de forma a elucidar as propriedades eletrônicas, hiperfinas e estruturais associadas ao processo de decaimento nuclear ¹¹¹Ag \rightarrow ¹¹¹Cd investigando sistematicamente os ligantes *Crown thioethers* 18S6, 19S6-OH e 20S6-OH coordenados com a Ag e Cd com o objetivo de identificar a coordenação metálica observada durante janela de tempo da medida da técnica TDPAC [43].

Capítulo 2

Metodologia

2.1. Mecânica Molecular Clássica

Num formalismo de mecânica clássica, a energia total de um conjunto de átomos é representada pela soma das energias cinética *T* e potencial *V* como

$$E = T + V. \tag{1}$$

A energia cinética *T* é definida como

$$T = \frac{1}{2} \sum_{i} m_i v_i^2, \tag{2}$$

onde m_i e v_i são a massa e velocidade do átomo *i*, respectivamente. A velocidade v_i será descrita mais adiante.

Dentre as várias maneiras encontradas na literatura, a energia potencial V pode ser representada pela equação (3) que descreve as interações entre pares átomos ligados e não ligados,

$$V = \sum_{i,j} V_R(r_{ij}) + \sum_{i,j,k} V_{\theta}(\theta_{ijk}) + \sum_{i,j,k,l} V_{\phi}(\phi_{ijkl}) + \sum_{i,j} V_{el}(r_{ij}) + \sum_{i,j} V_{vdW}(r_{ij}),$$
(3)

onde os índices $i, j, k \in l$ representam os átomos do sistema estudado. Nesta tese, a forma funcional do potencial V será descrito pelo conjunto de potenciais AMBER - Assisted model building with energy refinement [45,46], onde os primeiros três termos da equação

(3) representam as interações entre átomos ligados, por meio de uma ligação covalente, relacionadas com o vibração do comprimento de ligação e dos ângulos simples e de diedro; e os dois últimos termos representam às interações entre átomos não ligados relacionadas com as contribuições eletrostática e *van der Waals*.

O termo V_R da equação (3) representa a energia de estiramento entre dois átomos, *i* e *j*, ligados por uma distância r_{ij} . Na aproximação harmônica, a energia V_R pode ser escrita como

$$V_R = K_{ij} (r_{ij} - r_{0ij})^2, (4)$$

onde os parâmetros K_{ij} e r_{0ij} são a constante de força e o comprimento de equilíbrio, respectivamente. O termo V_{θ} representa a energia relacionada ao ângulo θ_{ijk} , definido por três átomos *i*, *j* e *k*, no qual *j* está ligado a *i* e *k*, que na aproximação harmônica pode ser escrito como

$$V_{\theta} = K_{ijk} \left(\theta_{ijk} - \theta_{0ijk} \right)^2, \tag{5}$$

onde os parâmetros K_{ijk} e θ_{0ijk} são a constante de força e o ângulo de equilíbrio, respectivamente. O termo V_{ϕ} representa a energia de torsão relacionada ao ângulo de diedro ϕ_{ijkl} definido por dois planos formados pelos átomos ijk e jkl, no qual os átomos i e j, j e k, k e l estão ligados. Na forma diedral deslocada, a energia de torsão V_{ϕ} pode ser escrita como

$$V_{\phi} = \frac{1}{2} V_{ijkl} [1 + \cos(n\phi_{ijkl} - \phi_{0ijkl})], \tag{6}$$

onde os parâmetros V_{ijkl} , $n \in \phi_{0ijkl}$ representam a amplitude da barreira de energia, a periodicidade da função e o deslocamento angular de equilíbrio, respectivamente.

O termo V_{el} representa a energia eletrostática calculada para as cargas efetivas Q_i e Q_j atribuídas aos pares de átomos *i* e *j* não-ligados separados por uma distância r_{ij} , pode ser escrita a interação Coulombiana como

$$V_{el} = \frac{1}{\epsilon} \frac{Q_i Q_j}{r_{ij}},\tag{7}$$

onde ϵ é a constante dielétrica. As cargas parciais Q de cada átomo de uma molécula são obtidas pelo procedimento RESP - *Restrained Eletrostatic Potential* [47]. No procedimento RESP, os valores das cargas centradas sob cada átomo do sistema são escolhidas de modo a reproduzir o potencial eletrostático obtido a partir de um cálculo de mecânica quântica (MQ). O procedimento RESP padrão adota a teoria *Hartree-Fock* para obter o potencial eletrostático, entretanto devido ao metal, utilizaremos a teoria do funcional da densidade sob o funcional B3LYP e o conjunto de base 6-31G* para os átomos C, N, O e H, e no caso de metais de transição, a base cc-pVTZ, considerando as posições atômicas fixas na molécula, conforme indicado na literatura [48]. As bases 6-31G* e cc-pVTZ reproduzem cargas parciais que dão origem a momentos dipolares maiores que os valores experimentais em fase gasosa, o que é uma característica desejável de moléculas polares em fases condensadas. Mais detalhes sobre a teoria do funcional da densidade podem ser vistos na seção 2.3. Vinculando a carga total do sistema, o método RESP busca ajustar os valores das cargas de cada átomo, utilizando o método dos mínimos quadrados, de maneira a reproduzir o potencial eletrostático obtido por MQ.

O termo V_{vdW} da equação (3) representa a energia de *van der Waals* representada pelo potencial de Lennard-Jones do tipo 6-12,

$$V_{\nu dW} = \left(\frac{A_{ij}}{r_{ij}}\right)^{12} - \left(\frac{B_{ij}}{r_{ij}}\right)^6,\tag{8}$$

onde A_{ij} e B_{ij} são constantes relacionadas às barreiras do potencial repulsivo e atrativo, respectivamente.

De forma geral, para a maioria dos átomos que constituem biomoléculas, os parâmetros que modulam as oscilações relacionadas às ligações e aos ângulos das interações ligadas e não ligadas, descritos nas equações (4) a (8), podem ser encontrados nos campos de força CHARMM [49], AMBER [50], GAFF [51], GROMOS [52], GLYCAM [53], etc. No entanto, para metais de transição não existem concordância na literatura sobre quais parâmetros devem ser utilizados para simulação de complexos metálicos. Nesta tese, os parâmetros que regem o campo de força com respeito as interações ligadas e não ligadas do cobre com os átomos de nitrogênio e oxigênio foram retirados do trabalho de pós-doutoramento de Marcos Brown Gonçalves obtidos pelo procedimento *Force Machting* de uma simulação de dinâmica molecular quântica para o complexo [Cu(enim)H₂O]²⁺ [54]. No apêndice A são apresentados os parâmetros de platina é descrito em [55].

2.1.1. Condições iniciais e Dinâmica Molecular Clássica

Na abordagem de condições periódicas de contorno centralizamos as posições iniciais atômicas do sistema investigado com relação a uma célula unitária de dimensões que não permitam a interação com as células vizinhas. Além disso, contra-íons e moléculas de água explícitas foram adicionados a célula unitária para neutralizar a carga total do sistema e simular o efeito do solvente sobre o sistema estudado utilizando os programas do pacote Ambertools, *addions* e *solvatebox*. Neste caso, o programa *addions* adiciona contra-íons próximos a superfície do potencial eletrostático do sistema estudado, e o programa *solvatebox* superposiciona sob o centro de massa do sistema estudado uma célula unitária, de mesmas dimensões da célula anterior, com moléculas de água pré-otimizadas, e para que não haja sobreposição de átomos, as moléculas de águas dentro do volume do sistema estudado são excluídas.

Devido ao fato do sistema inicial estar fora do equilíbrio térmico, o processo conhecido como equilibração foi realizado em duas etapas: a minimização de energia e o aquecimento à temperatura *T*. A minimização de energia, também conhecida como otimização da geometria do sistema, tem como objetivo encontrar um conjunto de posições

atômicas que minimizam localmente a energia potencial V, no qual o processo relaxa as distâncias das ligações químicas, os ângulos entre as ligações e os contatos intermoleculares de modo a encontrar o mínimo local mais próximo. De maneira geral, o método do gradiente conjugado é utilizado para explorar a superfície potencial na direção para o qual a energia decresce e alcance um mínimo de energia local. A técnica do gradiente conjugado utiliza informações prévias das derivadas primeiras do potencial com relação às posições atômicas para determinar uma direção ótima de busca. Após o processo de minimização de energia local, o sistema é aquecido gradualmente de 0 K à temperatura T atribuindo velocidades iniciais aos átomos de acordo com a distribuição de Maxwell-Boltzmann, onde a energia cinética é relacionada com a temperatura T especificada como

$$\frac{3}{2}NK_BT = \frac{1}{2}\sum_{i=1}^N m_i v_i^2.$$
 (9)

Na expressão acima, N é o número de partículas, e m_i e v_i são a massa e a velocidade do átomo i. A temperatura T é aumentada até a temperatura ambiente, neste caso, T = 300 K.

A dinâmica molecular clássica é realizada sobre o sistema equilibrado à temperatura *T* através da solução numérica iterativa da equação de movimento representada por

$$F_i = m_i a_i = -\frac{\partial V}{\partial r_i},\tag{10}$$

onde F_i é a força que atua no átomo *i* no instante *t*, e a_i é a aceleração do átomo massa m_i .

A integração das equações de movimento referente a equação (10) é resolvida por métodos de diferenças finitas obtendo a velocidade v_i dos átomos *i* num instante posterior $t + \Delta t$ para as novas posições atômicas r_i do sistema estudado. Dentre os métodos de diferenças finitas mais utilizados em dinâmica molecular, o algoritmo *Verlet* [56,57] resolve as equações de movimento através de um processo iterativo produzindo a trajetória, que é coleção de posições r_i e velocidades v_i ao longo do tempo, sob intervalos de tempo Δt muito pequenos de maneira a simular a oscilação entre dois átomos, por exemplo, de hidrogênio da ordem de 10⁻¹⁵ s ou 1 fs.

A partir do desenvolvimento em série de Taylor das posições atômicas $r_i(t + \Delta t)$ e $r_i(t - \Delta t)$ se obtêm

$$r_i(t + \Delta t) = r_i(t) + v_i(t)\Delta t + \frac{1}{2}a_i(t)\Delta t^2 + \cdots$$
 (11)

e

$$r_i(t - \Delta t) = r_i(t) - v_i(t)\Delta t + \frac{1}{2}a_i(t)\Delta t^2 + \cdots.$$
 (12)

Somando as equações (11) e (12), a relação utilizada no algoritmo de Verlet é obtida

$$r_i(t + \Delta t) = 2r_i(t) - r_i(t - \Delta t) + a_i(t)\Delta t^2.$$
 (13)

A expressão das velocidades atômicas pode ser obtida da subtração das equações (11) e (12),

$$v_i(t) = \frac{1}{2\Delta t} [r_i(t + \Delta t) - r_i(t - \Delta t)].$$
(14)

2.1.2. Ensembles estatísticos

O estado de equilíbrio termodinâmico de um sistema com um número N de átomos é determinado por variáveis macroscópicas, tais como a temperatura T, a pressão P, a energia total E, e a entalpia H. No caso da trajetória de uma dinâmica clássica este estado também pode ser descrito por variáveis microscópicas em função das posições e velocidades. Então, *ensembles* são definidos como conjunto de variáveis de estado mantidas constantes durante a integração das equações de movimento que representam o estado termodinâmico do sistema. Os ensembles mais conhecidos são:

- o microcanônico ou NVE, no qual o número de partículas N dentro da célula unitária, o volume V e energia total E são mantidos constantes.
- o canônico ou NVT, no qual o número de partículas N, o volume V e a temperatura T são mantidos constantes.
- O isobárico-isotérmico ou NPT, no qual o número de partículas N, a pressão P e a temperatura T são mantidos constantes.

O controle das propriedades termodinâmicas como, a temperatura e pressão do sistema, é feito por intermédio de termostatos e barostatos através da troca de calor com um reservatório térmico e da realização de trabalho expansivo por um pistão externo. O termostato e o barostato de *Langevin* [58] utilizados neste trabalho acoplam o sistema de interesse à um banho térmico e um pistão externo de modo a conduzir durante a simulação a temperatura e a pressão no instante t aos valores desejados. A pressão P em dado instante t da simulação pode ser expressa com auxilio do teorema de Virial,

$$P(t) = \frac{NK_BT}{V} - \frac{1}{3V} \sum_{i=1}^{N} \sum_{j>1}^{N} r_{ij}(t) \cdot F_{ij}(t),$$
(15)

onde r_{ij} é vetor posição ligando as moléculas i e j, e F_{ij} é a força intermolecular total entre o par de moléculas relativos ao instante t.

Por meio de uma dinâmica simples de *Langevin*, estes acoplamentos podem ser feitos por meio das equações de *Halmilton* ou *Lagrange* da mecânica clássica, no qual para cada passo de integração, uma força aleatória F_a é adicionada e uma força de fricção F_f é retirada para cada átomo. A força aleatória F_a adicionada é calculada de maneira que a força média seja zero e o seu desvio padrão δF_a seja dado por

$$\delta F_a = 2K_B T b_i m_i \Delta t, \tag{16}$$

onde K_B é a constante de Boltzmann, T é a temperatura do sistema, Δt é o passo de integração, b_i e m_i são o coeficiente de fricção e a massa para o átomo i, respectivamente. A força de fricção F_f é definida como

$$F_f = m_i b_i \frac{dr_i}{dt}.$$
(17)

A partir da simulação de dinâmica molecular, as propriedades termodinâmicas de estado podem ser obtidas pela média temporal de variáveis apropriadas. Portanto, a média temporal de A, uma variável dinâmica microscópica, expressada em termos das coordenadas r_i e das quantidades de movimento p_i dos átomos do sistema, pode ser escrita como

$$\langle A \rangle_{tempo} = \lim_{t \to \infty} \frac{1}{t} \int_0^t A(t) dt.$$
 (18)

No entanto, devido ao tempo limitado das simulações e ao passo temporal discreto utilizado, é necessário utilizar a hipótese ergódica para que a integral da equação (18) possa ser aproximada pela média de A(i) tomada no ensemble. Deste modo, a média temporal da propriedade A pode ser calculada como

$$\langle A \rangle_{iteração} \approx \frac{1}{M} \sum_{i=1}^{M} A(i),$$
 (19)

onde M são o número de iterações realizadas.

O monitoramento das propriedades *A* durante a trajetória de dinâmica molecular permite determinar se a simulação atingiu o equilíbrio termodinâmico.

Por exemplo, em uma reação indicada por

$$rR \rightleftharpoons pP$$
 (20)

onde r e p representam o número de moléculas de R e P que participam desta reação, o equilíbrio químico é atingido quando as velocidades das reações em ambos sentidos são

iguais. No equilíbrio, as concentrações molares dos reagentes e dos produtos, indicadas por [R] e [P], estão relacionadas pela constante de equilíbrio K_{eq} dada por:

$$K_{eq} = \frac{[P]^p}{[R]^r},\tag{21}$$

Sob temperatura e pressão constantes, a variação da energia livre real ΔG [59] esta relacionada com a constante de equilíbrio está reação como

$$\Delta G = \Delta G^0 + RT \ln K_{eq} \tag{22}$$

onde ΔG^0 é a variação da energia livre padrão cuja as concentrações iniciais do reagente e do produto são 1 *M*, e a temperatura de 298 *K* e pressão 1 *atm*. *R* é a constante dos gases (8,315 $J \cdot mol^{-1} K^{-1}$) e T é temperatura em Kelvin. No equilíbrio temos que $\Delta G = 0$, então podemos escrever

$$\Delta G^0 = -RT \ln K_{eq} \tag{23}$$

A partir do estudo experimental da competição entre o complexo de cobre $[Cu(isaenim)]^{2+}$ e o Brometo de etídio pelo sulco menor do DNA plasmidial [8,20], o grupo da Profa. Ana Maria da Costa Ferreira (IQUSP) estimou a energia livre de formação do complexo supramolecular $[Cu(isaenim)]^{2+}$ -DNA, a partir da constante de equilíbrio deste processo. Entretanto, apesar do conhecimento da competição pelo mesmo sítio de interação no DNA entre o complexo de cobre e a molécula Distamicina A (DST) [20], as informações sobre as sequências preferenciais de pares de bases nitrogenadas do $[Cu(isaenim)]^{2+}$ e seus estados intermediários ainda são desconhecidas.

Uma solução para aprofundar o entendimento da interação deste complexo [Cu(isaenim)]²⁺ com o DNA é utilizar uma metodologia que acelera eventos raros.

2.1.3. Eventos Raros

Eventos raros como reações químicas, transições de fase, enovelamento de proteínas e reconhecimento molecular são estados de difícil amostragem durante uma dinâmica clássica, pois exigem uma escala de tempo superior ao poder computacional atual. A escala de tempo de simulação atomística reproduzida pela maioria dos supercomputadores atualmente permanece restrita a centenas de ns, no caso da de dinâmica molecular clássica, e centenas de ps para dinâmica molecular *ab initio*, devido ao enorme custo computacional. Além disso, a observação de uma ou algumas trajetórias de eventos raros pode não ser suficiente para computar observáveis comparáveis com os experimentos.

Uma alternativa para simular eventos raros pode ser a renúncia da descrição de todos os átomos do sistema restringindo o modelo estudado a somente características essenciais, como por exemplo, a simulação do recorte do sítio ativo de uma proteína. Entretanto, esta alternativa necessita de um conhecimento detalhado do sistema estudado, que muitas vezes não é disponível.

Outra alternativa viável, utilizando a representação de todos os átomos do sistema, é a metodologia que acelera eventos raros. Dentre os métodos de acelerar eventos raros conhecidos (integração termodinâmica [60,61], *umbrela sampling* [62], *steered MD* [63]) podemos citar a metadinâmica [64].

2.1.4. Metadinâmica

A metadinâmica [64] é um método que acelera eventos raros durante uma simulação de dinâmica molecular permitindo obter uma superfície de energia livre ou *Free Energy Surface* (FES). A metadinâmica se diferencia dos outros métodos de acelerar eventos raros tradicionais devido ao seu potencial externo evitar a amostragem de regiões da superfície de energia já exploradas anteriormente. Além disso, este potencial externo historicamente dependente faz com que o sistema escape de uma região de mínimo de energia por meio do caminho de menor energia.

Nesta metodologia, a metadinâmica utiliza coordenadas de reação ou variáveis coletivas (*colective variables* - CVs) para representar a FES de maneira reduzida. As CVs são funções das posições atômicas s(x(t)) que descrevem as mudanças ou reações do sistema estudado. A energia livre da equação de um sistema atomístico sob um *ensemble NPT* pode ser escrita em função das CVs s(x) como

$$G(s) = -K_B T \log\left(\int dx \exp\left(-\frac{V(x)}{K_B T}\right) \delta(s - s(x))\right).$$
(24)

A escolha do conjunto de CVs deve ser feito com muito cuidado para descrever corretamente as barreiras de energia e os estados de interesse e, além disso, quanto maior o número de CVs, maior será o custo computacional. Devido a não existir receita para encontrar o melhor conjunto de CVs, muitas vezes esta escolha é realizada por meio da intuição experimental ou escolhida pela experiência na utilização da metodologia. Existem muitos tipos de CVs utilizados na literatura [65], mas nesta tese somente serão descritos apenas dois tipos de coordenadas de reação relacionados às propriedades geométricas e ao número de coordenação. As CVs relacionadas as propriedades geométricas são funções que representam distâncias e ângulos entres dois grupos atômicos. As CVs relacionadas ao número de coordenação são funções utilizadas para detectar a ligação entre um conjunto de átomos dentro uma distância específica.

A exploração da FES do sistema atomístico estudado é conduzida de maneira a acessar outros estados que devido ao adição de um potencial externo V_G , segundo um intervalo periódico de tempo t_G , modifica o potencial V(x) introduzindo contribuições repulsivas em forma de funções gaussianas na posição da CV s(x(t)) evitando que o sistema visite estados já amostrados anteriormente durante a trajetória. O potencial histórico dependente $V_G(s(x), t)$ pode ser escrito como

$$V_G(s(x),t) = w \sum_{t'=t_G, 2t_G, 3t_G, \dots} exp\left(-\frac{(s(x) - s_{t'})^2}{2\delta s^2}\right),$$
(25)

onde $w \in \delta s$ são a altura e a largura das funções gaussianas, s_t , é o valor da CV no tempo t e t_G é o período que as funções gaussianas são adicionadas ao potencial V(x).

Observando que o potencial V(x) se torna constante, no limite que w é muito pequeno, durante uma simulação de dinâmica molecular longa o suficiente, podemos reconstruir a FES explorada somando as contribuições repulsivas adicionadas ao longo da trajetória. A Figura 2-1 mostra a exploração da FES segundo a evolução temporal do potencial V(x) durante a metadinâmica. A exploração da FES começa preenchendo o mínimo central funções gaussianas e, depois de 20 primeiros passos de iteração, o sistema escapa pela menor barreira de energia a esquerda. Após 80 passos o segundo mínimo é preenchido totalmente e a metadinâmica continua explorando o sistema até que após o passo de número 160 supera a barreira de energia a direita do mínimo central. O preenchimento da FES continua até um total de 320 passos onde se nota que a soma de V(x) é constante.



Figura 2-1. Evolução temporal do perfil da superfície de energia livre explorada por meio da adição de contribuições repulsivas em forma de funções gaussianas durante a trajetória de metadinâmica. Os números das linhas finas representam as iterações realizadas durante a dinâmica molecular e a linha grossa representa o perfil de V(x) no tempo igual a zero. Figura retirada da literatura [64].

A metadinâmica pode ser utilizada não somente para estimar as diferenças de energia livre ΔG entre dois estados de equilíbrio, mas também pode explorar novos caminhos de reação obtendo estados intermediários importantes para uma dada reação

estudada. Nesta tese utilizamos a metadinâmica para realizar a dissociação do complexo metálico de um oligômero de DNA buscando estimar a diferença de energia livre entre os estados ligado e não ligado.

2.2. Aproximação de Born-Oppenheimer

Até agora o comportamento eletrônico não foi explicitamente incluído nesta metodologia e, para tanto, utilizaremos o formalismo da mecânica quântica onde as funções de onda descrevem o comportamento dos elétrons e dos núcleos atômicos. A equação de Schrödinger,

$$\widehat{H}\psi = E\psi, \tag{26}$$

utiliza o operador Hamiltoniano \hat{H} aplicado às funções de onda ψ para obter a energia total *E* do sistema sob um campo de forças determinado pelo operador de energia potencial \hat{V} . O operador \hat{H} pode ser escrito como

$$\widehat{H} = \widehat{T} + \widehat{V}.$$
(27)

O operador \hat{T} descreve a energia cinética dos núcleos e dos elétrons e o operador \hat{V} descreve as energias de interação elétron-elétron, núcleo-núcleo e núcleo-elétron. Deste modo, a equação (27) pode ser reescrita, sob o sistema de unidades atômicas, como

$$\widehat{H} = -\sum_{i=1}^{N} \frac{1}{2} \nabla_{i}^{2} + \sum_{A=1}^{M} -\frac{1}{2M_{A}} \nabla_{A}^{2} - \sum_{i=1}^{N} \sum_{A=1}^{M} \frac{Z_{A}}{|\vec{r}_{i} - \vec{R}_{A}|} + \sum_{A=1}^{M} \sum_{B>A}^{M} \frac{Z_{A}Z_{B}}{|\vec{R}_{A} - \vec{R}_{B}|} + \sum_{i=1}^{N} \sum_{j>i}^{N} \frac{1}{|\vec{r}_{i} - \vec{r}_{j}|}.$$
(28)

Os dois primeiros termos da equação (28) representam a energia cinética dos elétrons e dos núcleos, respectivamente, o terceiro termo representa a atração Coulombiana

entre os elétrons e os núcleos, e o quarto e quinto termos representam a repulsão eletrônica entre os núcleos e dos elétrons, respectivamente. Os vetores $\vec{r}_i \in \vec{r}_j$ representam as posições dos elétrons i = 1, ..., N e j = 1, ..., N, e os vetores $\vec{R}_A \in \vec{R}_B$ representam as posições dos núcleos A = 1, ..., M e B = 1, ..., M.

Na aproximação de Born-Oppenheimer [66], a função de onda dos elétrons pode ser desacoplada da função de onda dos núcleos, sendo estes considerados fixos. Portanto, a função de onda total pode ser escrita de forma paramétrica, pois as posições dos elétrons se ajustam em função das posições dos núcleos, como

$$\psi(R,r,t) = \Theta_m(R,t)\phi_m(R,r), \tag{29}$$

onde $\Theta_m(R, t)$ descreve a evolução temporal dos núcleos de cada estado adiabático m. Somente é possível representar a função de onda total desta maneira se a dinâmica dos núcleos não causar transições eletrônicas, ou seja, os elétrons permanecem sempre no mesmo estado adiabático m.

Deste modo, para um dado estado m a energia cinética dos núcleos é considerada igual a zero e a energia de repulsão nuclear é uma constante. Então, para uma dada configuração nuclear temos que o Hamiltoniano eletrônico \hat{H}_{el} pode ser escrito como

$$\hat{H}_{el} = -\frac{1}{2} \sum_{i=1}^{N} \nabla_i^2 - \sum_{i=1}^{N} \sum_{A=1}^{M} \frac{Z_A}{|\vec{r}_i - \vec{R}_A|} + \sum_{i=1}^{N} \sum_{j>i}^{N} \frac{1}{|\vec{r}_i - \vec{r}_j|} = \hat{T} + \hat{V}_{Ne} + \hat{V}_{ee}.$$
 (30)

Aqui, temos que no \hat{H}_{el} , o primeiro termo \hat{T} se refere a energia cinética dos elétrons, e os termos $\hat{V}_{Ne} \in \hat{V}_{ee}$ representam a energia de interação Coulombiana, entre os núcleos e os elétrons, e a repulsão eletrônica, respectivamente. O maior problema aqui é representar o \hat{V}_{ee} que descreve toda a informação da interação eletrônica de muitos corpos.

Para descrever esta informação de muitos corpos, utilizaremos a Teoria do Funcional da Densidade (*Density Functional Theory* – DFT).
2.3. Teoria do Funcional da Densidade

A teoria da DFT propõem uma solução exata para o problema de muitos corpos utilizando como variável fundamental a densidade eletrônica, sendo formalizada por dois teoremas de Hohenberg e Kohn (HK) [67] e pelas equações de Kohn e Sham (KS) [68] que são os fundamentos desta metodologia. As equações KS consideram os elétrons como partículas independentes e propõem que há um funcional de troca correlação responsável por descrever o termo da energia de troca e correlação, que fora inicialmente desconsiderado. A princípio, a proposta da KS-DFT é uma solução exata, desde que se conheça o termo de troca e correlação.

2.3.1. Teoremas de Hohenberg e Kohn

Os dois teoremas propostos por Hohenberg e Kohn [67] em 1964 são:

- O potencial externo $v_{ext}(r)$ é determinado pela densidade eletrônica, a menos de uma constante, de maneira unívoca.
- Se a densidade eletrônica ρ(r) determina de maneira única, o potencial externo v_{ext}(r) então também determina o estado fundamental da função de φ_m. A energia para o estado fundamental E[ρ₀(r)] é mínima para a densidade ρ(r) exata. Então E[ρ₀(r)] < E_v[ρ(r)] para qualquer ρ(r) ≠ ρ₀(r).

Segundo os teoremas de HK é possível reduzir um problema de 3 *N* variáveis por um problema de 3 variáveis, ou seja, podemos encontrar uma função de onda eletrônica com apenas 3 variáveis.

2.3.2. Orbitais de Kohn e Sham

Em 1965, W. Kohn e L. Sham (KS) [68] proporam uma metodologia eficaz para calcular a energia total de um sistema de muitos corpos aplicando os teoremas de HK.

Partindo do primeiro teorema de HK, a energia total $E[\rho(r)]$ pode ser escrita como um funcional da densidade eletrônica $\rho(r)$

$$E[\rho(r)] = V_{ext}[\rho(r)] + F[\rho(r)] = V_{ext}[\rho(r)] + T[\rho(r)] + V_{ee}[\rho(r)],$$
(31)

sendo que o primeiro termo $V_{ext}[\rho(r)]$ representa o potencial externo e o segundo termo $F[\rho(r)]$ é o funcional universal, independente do sistema estudado, que considera a energia cinética $T[\rho(r)]$ e as interações eletrônicas $V_{ee}[\rho(r)]$ referentes a um sistema de partículas interagentes. A proposta de KS de utilizar um sistema de referência R, no caso um sistema de elétrons não interagentes, para descrever um sistema de elétrons interagentes foi elaborada para construir o funcional $F_{KS}[\rho(r)]$ que pode ser escrito como

$$F_{KS}[\rho(r)] = T_R[\rho(r)] + \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(r)\rho(r')}{|r-r'|} d^3r d^3r' + E_{XC}[\rho(r)].$$
(32)

Aqui, o primeiro termo $T_R[\rho(r)]$ representa a energia cinética de elétrons não interagentes, o segundo termo representa a interação Coulombiana eletrônica e, por último, o termo $E_{XC}[\rho(r)]$ representa as partes da interação de troca e correlação de um sistema de elétrons interagentes e da energia cinética de elétrons interagentes desconsiderada quando foi utilizado $T_R[\rho(r)]$.

Uma vez que o sistema de referência é utilizado para mapear o sistema de elétrons interagentes, podemos escrever a sua densidade eletrônica a partir dos orbitais de uma partícula $\varphi_i(r)$, ou os orbitais KS como

$$\rho(r) = \sum_{i}^{N} f_i \varphi_i(r)^2.$$
(33)

Portanto, podemos escrever novamente o funcional energia como

$$E[\rho(r)] = \int V_{ext}(r)\rho(r)d^{3}r + T_{R}[\rho(r)] + \frac{1}{2}\iint \frac{\rho(r)\rho(r')}{|r-r'|}d^{3}rd^{3}r' + \int \rho(r)E_{XC}[\rho(r)]d^{3}r.$$
(34)

O segundo teorema de HK diz que a correta densidade $\rho(r)$ para o estado fundamental é a que minimiza o funcional de energia total do sistema. Para isto, o teorema variacional é aplicado considerando como vínculo a carga eletrônica fixa. A carga eletrônica fixa é dada por

$$\int \rho(r)d^3r = N. \tag{35}$$

O teorema variacional aplicado a $E[\rho(r)]$ é

$$\delta\left(E[\rho(r)] - \epsilon\left[\int \rho(r)d^3r - N\right]\right) = 0.$$
(36)

A demonstração do princípio variacional não será dado neste texto, mas pode ser encontrada na referência [69]. Pelo principio variacional, o Hamiltoniano \hat{H}_{KS} de uma partícula é dado por

$$\widehat{H}_{KS} = -\frac{1}{2}\nabla^2 + v_{ext}(r) + \int \frac{\rho(r')}{|r-r'|} d^3r' + v_{XC}[\rho(r)].$$
(37)

Novamente, descrevendo o Hamiltoniano \hat{H}_{KS} temos que o primeiro termo é a energia cinética de cada elétron, o segundo termo é o potencial externo $v_{ext}(r)$ relacionado a interação entre os elétrons e os núcleos, o terceiro termo descreve a interação elétronelétron Coulombiana e o quarto termo $v_{XC}[\rho(r)]$ é chamado de potencial de troca e correlação onde se separa toda a ignorância que não foi descrita pelo sistema referência utilizado. Pelo princípio variacional, $v_{XC}[\rho(r)]$ pode ser representado como

$$v_{XC}[\rho(r)] = \frac{\delta E_{XC}}{\delta \rho}.$$
(38)

Para resolver, portanto, a equação de Schrödinger de uma partícula,

$$\widehat{H}_{KS}\varphi_i(r) = \varepsilon_i\varphi_i(r), \tag{39}$$

temos que admitir *a priori* o potencial de troca e correlação E_{XC} . Muitos cientistas propuseram várias aproximações deste termo, inclusive W. Kohn e L. Sham [68], entretanto as mais conhecidas pela comunidade são as aproximações *Local Density Approximation* (LDA), *Local Spin Density Approximation* (LSDA) e a *Generalized Gradient Approximation* (GGA).

A aproximação LDA assume que a energia de troca e correlação de um sistema de gás de elétrons homogêneos de densidade $\rho(r)$ no ponto r é igual a energia de troca e correlação de elétrons interagentes de mesma densidade. No caso de sistemas com densidade spin diferentes, ρ^{α} diferente ρ^{β} , a LSDA segue a mesma ideia da LDA, mas assume uma função de spin polarizada total. Entretanto, a densidade eletrônica de sistemas reais não é homogênea e como uma maneira mais refinada do que a LDA ou a LSDA surgiu a aproximação GGA que é uma expansão generalizada em termos de gradientes da densidade local. As aproximações mais conhecidas dos funcionais de troca e correlação GGA são os trabalhos de Perdew-Burke-Erzenhof (PBE) [70], de Lee-Yang-Parr-Becke (BLYP) [71], de Perdew e Wang [72], de Perdew [73] e de Becke [74].

Em 1993, A. Becke [75] introduziu um funcional E_{XC} capaz de combinar as contribuições de troca do método Hartree-Fock e de correlação do DFT. Este funcionais, conhecidos como funcionais híbridos ou DFT híbridos, incluem a mistura das contribuições de troca e correlação através pela relação determinada por Becke para um conjunto de moléculas com o objetivo de melhorar algumas propriedades moleculares, como energia de atomização, comprimento de ligação e frequências de vibração. O funcional de troca e correlação criado por Becke E_{XC}^{B3LYP} pode ser escrito como

$$E_{XC}^{B3LYP} = 0.8 * E_X^{LSDA} + 0.2 * E_X^{HF} + 0.72 * E_X^{Becke} + 0.71 * E_C^{LYP} + 0.19 * E_C^{VWN},$$
(40)

onde os valores numéricos representam as contribuições percentuais de troca e correlação adicionados ao cálculo DFT dentro do esquema KS. E_X^{LSDA} , E_X^{Becke} , E_C^{LYP} e E_C^{VWN} são as energias de troca da aproximação LSDA e da proposta por Becke, em 1988, e as energias de correlação propostas por Lee, Yang e Perdew (LYP) e Volsko, Wilk e Nusair (VWN) [76]. A contribuição de troca Hartree-Fock ou exata E_X^{HF} de um gás de elétrons não interagentes é calculada como

$$E_X^{HF} = \frac{1}{2} \sum_{i,j} \int \int \varphi_i^*(r_1) \varphi_j(r_1) \frac{1}{r_{12}} \varphi_i^*(r_2) \varphi_j(r_2) dr_1 dr_2.$$
(41)

Outros funcionais como o PBE0 [77] e o BHandHLYP são bastante conhecidos e utilizados na literatura. O funcional híbrido PBE0, originado a partir do PBE, apresenta 25% de troca HF, 75% de correlação do PBE original e 100% de correlação proposta por Perdew e Wang, em 1991, pode ser escrito como

$$E_{XC}^{PBE0} = 0.25 * E_X^{HF} + 0.75 * E_X^{PBE} + E_C^{PW91},$$
(42)

e o BHandHLYP é baseado no B3LYP representado por

$$E_{XC}^{BHandHLYP} = 0.5 * E_X^{LSDA} + 0.5 * E_X^{HF} + 0.5 * E_X^{Becke} + E_C^{LYP}.$$
(43)

Neste trabalho utilizamos os funcionais de troca e correlação BP86, PBE [70], PBE0 [77], B3LYP e o BHandHLYP.

2.4. Funções de Base

2.4.1. Funções de Base de Ondas Gaussianas

As funções de onda gaussianas utilizadas nos códigos computacionais Gaussian09 [78] e ORCA [79] são descritas por meio de uma combinação linear de diversas funções de base gaussianas do tipo atômico centradas sobre os sítios atômicos [80]. Os orbitais do tipo atômico, constituídos pelo produto de uma parte radial e outra angular, fornecem uma boa descrição da densidade eletrônica próxima ao núcleo e quando combinados linearmente representam o orbital molecular.

A base de Alrich's conhecida como *all-eletron* $3 - \zeta$ de valência polarizada (TZVP – *triple zeta valence polarization*) [81] foi utilizada para representação do cobre coordenado aos átomos de oxigênio e nitrogênio. A base TZVP triplica o número de gaussianas do tipo atômico na região de valência e adiciona funções de polarização responsáveis pelo acréscimo de orbitais de maior momento angular *l* e do número de estados ocupados no estado fundamental. Neste trabalho, a base TZVP apresentou a boa descrição da geometria da coordenação do cobre e obteve resultados de melhor custobenefício sobre a indicada *core polarized* CP(PPP) [79]. A base CP(PPP) foi desenvolvida por F. Neese para o cálculo dos parâmetros hiperfinos no cobre, onde é necessário uma excelente descrição da densidade eletrônica nas regiões nucleares. Como característica principal esta base é muito flexível na região de caroço, ou próximo ao núcleo, e foi desenvolvida para fornecer melhores resultados no cálculo da interação de contato de Fermi. No entanto, os resultados obtidos para o complexo metálico [CuCl₄]²⁻ mostraram que a base TZVP é superior a CP(PPP).

2.4.2. Funções de Base de Ondas Planas

As ondas planas são muito utilizadas pela comunidade de física do estado sólido, pois são eficientes para calcular sistema periódicos. Embora não seja tão eficiente, é possível descrever sistemas isolados ou moléculas através do tratamento de supercélulas. As supercélulas são células unitárias construídas de maneira que não exista interação com suas imagens periódicas. Para isto, as células unitárias são suficientemente grandes para que na reprodução periódica um átomo não sinta a presença de outro átomo da célula vizinha. Diferente das bases locais, as ondas planas não se deslocam com os átomos e podem representar todo espaço com a mesma precisão.

No esquema KS, a expressão geral para a expansão de funções de onda $\varphi_i(r)$, em termos de uma combinação de ondas planas, é dada por

$$\varphi_{i}(r) = \frac{e^{ik.r}}{\sqrt{\Omega}} \sum_{G=0}^{\infty} C_{ik}(G) e^{iG.r} = \sum_{G=0}^{\infty} C_{ik}(G) \frac{1}{\sqrt{\Omega}} e^{i(k+G).r}.$$
(44)

Os vetores *G* permitem a expansão de ondas planas para os vetores da rede recíproca e um infinito número destes vetores são necessários para uma base completa. Porém, os coeficientes de Fourier $C_{ik}(G)$ das funções de onda decrescem como o aumento de |k + G|, isto é, a convergência das propriedades físicas em relação ao tamanho da base é muito simples. A expansão da base de ondas planas é truncada em um número finito de termos e é estabelecido uma energia de corte (E_{cut}) para as energias cinéticas de todas as ondas do sistema

$$\frac{\hbar^2}{2m}|k+G|^2 < E_{cut}.$$
(45)

A energia de corte será especificada em Rydberg (Ry). A expressão da densidade eletrônica, no esquema KS, para a base de ondas planas é dada por

$$\rho(r) = \sum_{k \in \mathbb{Z}B} \omega_k \sum_{i=1}^{N_k} f_i |\varphi_i(r)|^2, \tag{46}$$

onde ω_k são fatores de peso que dependem da simetria da célula unitária, N_k é o número de estados eletrônicos ocupados em cada ponto k e f_i é o estado ocupado da banda i.

Porém, próximo ao núcleo atômico, o potencial externo não é constante e a solução da equação de Schrödinger é escrita com uma combinação linear de ondas planas.

2.4.3. Funções de Base de Onda Aumentada

Em 1994, P. Blöch propôs um método *Projector Augmented Wave* (PAW) para tratar as rápidas oscilações das funções de onda próximas ao núcleo [82]. Os elétrons apresentam rápidas oscilações próximas ao núcleo devido a energia cinética nesta região ser muito grande quando comparado a região mais afastada. O método PAW, que é um método

ab initio all-electron, dentro do formalismo da DFT e no esquema KS, procura construir a função de onda total de maneira a dividi-la em duas partes: a região de *augmentation*, que é a região mais próxima ao núcleo; e a região de valência. As duas regiões serão separadas pelo raio de corte Ω_I referente ao sítio atômico *I*. Para isto, o operador \mathcal{T} é definido como um operador que quando aplicado a função de onda total irá transforma-la em uma função de onda da região de valência, ou seja, que tem o comportamento suave

$$|\Psi_n\rangle = \mathcal{T} |\tilde{\Psi}_n\rangle. \tag{47}$$

Quando o operador \mathcal{T} é aplicado dentro da região de *augmentation*, definida pelo raio de corte Ω_I deve conter um termo S_I que corrige as contribuições necessárias a esta região. Deste modo podemos definir o operador \mathcal{T} como

$$\mathcal{T} = 1 + \sum_{I} S_{I}.$$
⁽⁴⁸⁾

O termo S_I é representado em termos das soluções $|\varphi_i\rangle$ da equação de Schrödinger de átomos isolados. Portanto, a função de onda da região de *augmentation* é representada como

$$\Psi(\vec{r}) = \sum_{i \in \Omega_I} \varphi_i(\vec{r}) c_i \qquad para \quad \left| \vec{r} - \vec{R} \right| < \Omega_I.$$
⁽⁴⁹⁾

Aplicando o operador S_I à função de onda $|\varphi_i\rangle$ temos

$$|\varphi_i\rangle = (1 + S_I)|\tilde{\varphi}_i\rangle$$
 para $i\epsilon\Omega_I$ (50)

e

$$S_{I}|\tilde{\varphi}_{i}\rangle = |\varphi_{i}\rangle - |\tilde{\varphi}_{i}\rangle.$$
(51)

O termo c_i é definido como produto escalar

$$c_i = \left< \tilde{p}_i \middle| \tilde{\Psi} \right>, \tag{52}$$

onde $\langle \tilde{p}_i |$ é definada como uma função projetora e o termo *i* se estende aos sítios atômicos *I*, ao números quânticos dos momentos angulares *l* e *m* para cada sítio *I* e aos números de ondas parciais por momento angular por sítio *n*, isto é, *i*={*I*,*l*,*m*,*n*}. Dentro da região de *augmentation* ou "*aumentada*" temos que a função de onda total $|\tilde{\Psi}_i\rangle$ é

$$\left|\tilde{\Psi}_{i}\right\rangle = \sum_{i} \left|\tilde{\varphi}_{i}\right\rangle \left\langle\tilde{p}_{i}\right|\tilde{\Psi}_{i}\right\rangle \quad para \quad \left|\vec{r} - \vec{R}\right| < \Omega_{I}.$$
(53)

Aplicando o operador S₁ na função de onda $|\tilde{\Psi}_i\rangle$ temos

$$S_{I}|\widetilde{\Psi}_{i}\rangle = \sum_{i} S_{I}|\widetilde{\varphi}_{i}\rangle\langle\widetilde{p}_{i}|\widetilde{\Psi}_{i}\rangle = \sum_{i} (|\varphi_{i}\rangle - |\widetilde{\varphi}_{i}\rangle)|\widetilde{\varphi}_{i}\rangle\langle\widetilde{p}_{i}|\widetilde{\Psi}_{i}\rangle.$$
(54)

Portanto, analisando o último termo da expressão (54) podemos novamente escrever o operador $\boldsymbol{\mathcal{T}}$ como

$$\mathcal{T} = 1 + \sum_{I} S_{I} = 1 + \sum_{i} (|\varphi_{i}\rangle - |\tilde{\varphi}_{i}\rangle) |\tilde{\varphi}_{i}\rangle \langle \tilde{p}_{i}|.$$
(55)

E finalmente, a função de onda total pode ser expressada como

$$|\Psi_{i}\rangle = \left|\widetilde{\Psi}_{i}\rangle + \sum_{i} (|\varphi_{i}\rangle - |\widetilde{\varphi}_{i}\rangle) \left\langle \widetilde{p}_{i} \middle| \widetilde{\Psi}_{i} \right\rangle$$
(56)

ou

$$|\Psi_{i}\rangle = \underbrace{|\widetilde{\Psi}_{i}\rangle}_{Intersticial} + \underbrace{\sum_{i} (|\varphi_{i}\rangle\langle \widetilde{p}_{i}|\widetilde{\Psi}_{i}\rangle - |\widetilde{\varphi}_{i}\rangle\langle \widetilde{p}_{i}|\widetilde{\Psi}_{i}\rangle)}_{augmentation}.$$
(57)

A primeira parte da função de onda, $|\tilde{\Psi}_i\rangle$, descreve as partes suaves da função de onda dos elétrons longe do núcleo, região intersticial, e a segunda parte representa as funções de *augmentation* e descrevem as propriedades das funções de onda próximas ao núcleo. As funções *augmentation* são construídas a partir da combinação linear das funções dos átomos centrados (funções de ondas *all-eletron* parciais $|\varphi_i\rangle$ e pseudo funções de onda $|\tilde{\varphi}_i\rangle$) e estão localizadas dentro das regiões da esfera de *augmentation* com raio de corte Ω_I em torno de cada átomo *I*. Devido a impossibilidade, do ponto de vista computacional, de utilizar uma base completa, isto é, base infinita de funções de ondas planas e ondas parciais, se faz necessário utilizar bases incompletas de ondas parciais. As funções de ondas *alleletron* parciais $|\varphi_i\rangle$ são soluções da equação de Schrödinger para o átomo isolado e são obtidas por uma função radial $|\chi_i\rangle$ multiplicada por harmônicos esféricos $Y_{l,m}$, tal que $\varphi_i(r) = \chi_i(r)Y_{l,m}(r)$.

A Figura 2-2 mostra como é feita a construção da função de onda total para um sítio *I*.



Figura 2-2. Representação esquemática da construção da função de onda de valência do sítio atômico *I*. A figura foi retirada da referência [83].

O comportamento da função de onda $|\Psi_i\rangle$ pode ser separado em duas regiões: dentro e fora da região de *augmentation*. Fora da região de *augmentation*, a função de onda total deve ser igual a $|\widetilde{\Psi}_i\rangle$, impondo que

$$\sum_{i} |\varphi_{i}\rangle \langle \tilde{p}_{i} | \tilde{\Psi}_{i} \rangle = \sum_{i} |\tilde{\varphi}_{i}\rangle \langle \tilde{p}_{i} | \tilde{\Psi}_{i} \rangle.$$
(58)

E dentro da região de *augmentation*, a função de onda total deve ser igual a $\sum_i |\varphi_i\rangle \langle \tilde{p}_i | \tilde{\Psi}_i \rangle$, impondo que

$$\sum_{i} |\tilde{\varphi}_{i}\rangle \langle \tilde{p}_{i} | \tilde{\Psi}_{i} \rangle = | \tilde{\Psi}_{i} \rangle.$$
(59)

Esta construção da função de onda total é muito importante para cálculos que dependem da densidade eletrônica próxima ao núcleo, como o Gradiente do Campo Elétrico (GCE) ou propriedades hiperfinas.

Os elétrons próximos ao núcleo são tratados pelo método PAW pela aproximação de caroço congelado (*frozen-core*), onde funções de onda de átomos isolados são utilizadas para descrever os elétrons que não estão envolvido nas ligações químicas. De maneiras que as funções dos elétrons de caroço não se misturam com as que descrevem a região de valência.

2.5. Dinâmica Molecular de Primeiros Principios de Car-Parrinello

Em 1985, R. Car e M. Parrinello [84] desenvolveram um método *ab initio* de dinâmica molecular similar a dinâmica molecular de *Born-Oppenheimer (Born-Oppenheimer Molecular Dynamics –* BOMD). Enquanto que a BOMD é uma dinâmica molecular *ab initio* muito custosa, e em alguns casos inviável, devido a minimização da função de onda eletrônica ser realizada a cada iteração ou movimentação do núcleos, a dinâmica molecular *ab initio* de Car-Parrinello (*Car-Parrinello Molecular Dynamics –* CPMD) introduz um grau de liberdade fictícia, tratando o módulo quadrado da função de

onda com uma coordenada generalizada. Esta dinâmica fictícia dos elétrons acopla os núcleos e os elétrons sob a condição adiabática, ou seja, o sistema é mantido sob uma dinâmica molecular suave das funções de ondas de maneira que o sistema eletrônico permaneça no estado fundamental. Sob a condição adiabática, a minimização das função de onda eletrônica não é mais necessária a cada nova iteração, ao invés disso se faz necessária uma propagação e minimização das coordenadas eletrônicas de forma similar a dinâmica molecular clássica.

A dinâmica molecular *ab initio* CPMD considera que a energia sempre se manteria constante e igual ao estado fundamental de energia definida pela DFT no esquema KS, no qual o funcional da energia é definido como

$$E_{KS}[\rho] = T_R[\rho] + \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(r)\rho(r')}{|r-r'|} d^3r d^3r' + \int \rho(r) E_{XC}[\rho] d^3r + \sum_{I=1}^{P} \int V_{ext}(r-R_I)\rho(r) d^3r + \frac{1}{2} \sum_{I=1}^{P} \sum_{J\neq I}^{P} \frac{Z_I Z_J}{|R_I - R_J|}.$$
(60)

O movimento dos íons está associado as forças instantâneas que dependem da configuração do sistema em um tempo t_0 e de forças que se modificam por uma variação de tempo infinitesimal $\Delta t \rightarrow 0$. As forças que agem sobre o sistema podem ser calculadas por simples derivação em relação as coordenadas nucleares *I* como demostrado

$$F_{I} = -\frac{\partial E_{KS}[\rho](R)}{\partial R_{I}} = -\int \rho(r) \frac{\partial V_{ext}(r-R_{I})}{\partial R_{I}} d^{3}r + \sum_{J\neq I}^{P} Z_{I} Z_{J} \frac{R_{I}-R_{J}}{\left|R_{I}-R_{J}\right|^{3}}.$$
 (61)

O método de Car-Parrinello utiliza a metodologia da DFT, no esquema de KS, para descrever a estrutura eletrônica instantânea e as equações de movimento de Newton para descrever a evolução temporal das variáveis eletrônicas e nucleares. Para minimizar o custo computacional toma-se a *Lagrangeana* que faz o acoplamento das equações dos núcleos e dos elétrons. A *Lagrangeana* pode ser escrita como

$$\mathcal{L}_{CP} = \frac{1}{2} \sum_{I=1}^{P} M_{I} \dot{R}_{I}^{2} + m_{\varphi} \sum_{i=1}^{N} f_{i} \int |\dot{\varphi}_{i}(r)|^{2} d^{3}r - E_{KS}[\varphi_{i}(r)](R) + \sum_{i=1}^{N} f_{i} \sum_{j=1}^{N} \Lambda_{ij} \left(\int \varphi_{i}^{*}(r) \varphi_{j}(r) d^{3}r - \delta_{ij} \right).$$
(62)

O primeiro e o segundo termos da *Lagrangeana* \mathcal{L}_{CP} representam as energias cinéticas dos núcleos e dos elétrons, respectivamente. M_I são as massas dos núcleos $P \in m_{\varphi}$ as massas fictícias dos elétrons, e f_i são os estados de ocupação associados aos orbitais dinâmicos de KS $\varphi_i(r)$. O terceiro termo representa o potencial *ab initio* da energia no esquema KS e o último termo é a restrição de ortonormalidade para as funções de onda representados pelos multiplicadores de *Lagrange* Λ_{ij} .

Resolvendo a *Lagrangeana* \mathcal{L}_{CP} se obtém as equações de movimento de Car-Parrinello que são

$$M_I \ddot{R}_I = \frac{\partial E_{KS}[\rho_i(r)](R)}{\partial R_I}$$
(63)

e

$$m_{\varphi} | \ddot{\varphi}_{i} \rangle = -\frac{1}{f_{i}} \left[\frac{\delta E_{KS}[\varphi_{i}(r)](R)}{\delta \varphi_{i}^{*}(r)} \right] + \sum_{j=1}^{N} \Lambda_{ij} \varphi_{j}(r, t)$$

$$= -\widehat{H}_{KS} | \varphi_{i} \rangle + \frac{1}{f_{i}} \sum_{j=1}^{N} | \varphi_{i} \rangle \Lambda_{ij}.$$
(64)

O efeito dos núcleos sobre os elétrons é incluído no Hamiltoniano H_{KS} onde o movimento nuclear depende dos graus de liberdade eletrônicos através de $E_{KS}[\rho_i(r)](R)$. Para a aproximação de Car-Parrinello ser bem sucedida, os dois subsistemas, nuclear e eletrônico, devem estar desacoplados impedindo que a energia flua do núcleo quente para a função de onda resfriada durante a simulação. Para desacoplar adiabaticamente os sistemas é necessário que os espectros energéticos, nucleares e eletrônicos, estejam separados. Para isto, sistemas com grande diferença entre o *HOMO* e o *LUMO* fornecem uma energia total e uma energia física ($E_{fis} = T + V$) bem comportada com baixas oscilações em torno de um valor médio. Para sistemas com *gap* tendendo a zero, o problema pode ser resolvido acoplando termostatos aos dois subsistemas impedindo que o fluxo de energia dos núcleos para as funções de ondas. Além disso, o passo de integração sob as equações de movimento dever ser muito pequeno de maneira a assegurar que a função de onda eletrônica permaneça próxima á superfície de Born-Oppenheimer.

2.5.1. Dinâmica Molecular de Car-Parrinello Híbrida CP/MM

A dinâmica molecular de Car-Parrinello híbrida (CP/MM) pode ser realizada dividindo o Hamiltoniano do sistema de interesse em três partes

$$H_{QM/MM} = H_{QM}(R_{\alpha}) + H_{MM}(R_{I}) + H_{QM-MM}(R_{\alpha}, R_{I}),$$
(65)

sendo que a ideia básica é construir um Hamiltoniano que descreva a região de interesse, parte QM, tratada sob o nível quântico, a parte MM tratada classicamente e a interface clássica e quântica QM - MM. Neste trabalho, $H_{QM}(R_{\alpha})$ é o Hamiltoniano H_{KS} utilizado na DFT no esquema KS incluída na dinâmica molecular de Car-Parrinello [84], e $H_{MM}(R_I)$ é representado por potenciais clássicos utilizados na dinâmica molecular clássica implementados no código computacional GROMOS [85]. O Hamiltoniano H_{QM-MM} descreve as interações ligadas e não-ligadas entre as regiões QM e MM. Abordamos a metodologia na qual o complexo de cobre esta incluído totalmente dentro da região QM, e por isso não haverá contribuição das interações ligadas. A interação não ligada H_{NL} pode ser descrita como

$$H_{NL} = \sum_{i \in MM} q_i \int dr \frac{\rho(r)}{|r - r_i|} + \sum_{\substack{i \in MM \\ j \in QM}} \vartheta_{vdW}(r_{ij}),$$
(66)

onde r_i é a posição do átomo *i* que pertence a região *MM* com carga q_i , ρ é a carga total (elétrons + núcleos) da região *QM* e ϑ_{vdW} representa a interação de *van der Waals* entre o átomo *i* da região *MM* e o átomo *j* da região *QM*. O caroço da carga dos átomos *j* pertencentes à região *QM* é representado por uma distribuição gaussiana de carga descrita pela altura Z_j designada pela valência do átomo *j* e com largura r_g . No entanto, dois problemas surgem durante a evolução da interação eletrostática:

- As cargas positivas derivadas do termo de repulsão de Pauli na região MM próximas a interface QM – MM agem como armadilhas de elétrons da região QM. Isto leva ao problema de espalhamento eletrônico ou spill-out e para funções de ondas altamente localizadas, como ondas planas, seu efeito é pronunciado.
- O cálculo da interação eletrostática é muito custoso computacionalmente.

Para resolver o primeiro problema, um potencial *Coulombiano* modificado ϑ_{MM} é aplicado de maneira que a carga do átomo *i* próximo à região de interface QM - MM seja espalhada (delocalizada) e perto do núcleo o seu valor decaía para um valor finito. O potencial *Coulombiano* modificado ϑ_{MM} é escrito como

$$\vartheta_{MM} = \frac{r_{cMM}^n - r^n}{r_{cMM}^{n+1} - r^{n+1}},$$
(67)

onde o r_{cMM} é o raio covalente do átomo n na região MM.

O segundo problema é minimizado dividindo o cálculo da interação eletrostática no sistema clássico em três camadas ao redor da região QM. Na primeira camada mais próxima ao redor da região QM, a energia de interação eletrostática é calculada pela interação entre a integral sobre a densidade de carga interagente da região QM com as NN cargas pontuais clássicas contidas na primeira camada ao redor da região QM. Esta interação é escrita como

$$H_{el} = \sum_{j \in NN} q_j \int dr \,\rho \vartheta_j (|r - r_j|).$$
(68)

50

A segunda contribuição da energia de interação eletrostática é calculada entre as cargas pontuais clássicas da segunda camada e as cargas D-RESP da parte QM. As cargas D-RESP são obtidas por ajustes de maneira a reproduzir a interação eletrostática das NN cargas pontuais. E a última contribuição eletrostática é obtida pela interação da expansão de multipolos da região QM com as cargas pontuais clássicas contidas na última camada.

Capítulo 3

Interação Hiperfina

Apesar de até aqui o núcleo ser considerado como pontual, o cálculo da interação hiperfina necessita que o núcleo seja representado por uma distribuição de cargas e, em alguns casos, possua um momento magnético nuclear diferente de zero. Embora, as interações hiperfinas sejam pequenas, elas produzem desdobramentos nos níveis eletrônicos e nucleares que são capazes de revelar informações sobre a geometria e a coordenação do núcleo de prova estudado.

As interações hiperfinas podem ser de dois tipos: a interação hiperfina elétrica e a interação hiperfina magnética. A interação hiperfina elétrica é devido à interação entre o momento de quadrupolo elétrico do núcleo e o gradiente do campo elétrico criado por uma distribuição eletrônica anisotrópica. A interação hiperfina magnética por sua vez é devida à interação entre um núcleo, com spin diferente de zero, e os momentos magnéticos eletrônicos orbital e de spin.

3.1. Interação Hiperfina Elétrica

Classicamente, a energia de interação hiperfina elétrica [86] de uma distribuição de carga nuclear $\rho(r)$ em um potencial externo $\Phi(r)$, devido aos elétrons e outros núcleos da vizinhança, é dada por

$$E_{int} = \int \rho(r) \,\Phi(r) \,d^3r, \tag{69}$$

sendo a carga nuclear igual a

$$\int \rho(r) \, d^3r = Ze. \tag{70}$$

Desenvolvendo o potencial $\Phi(r)$ em série de Taylor em torno de r = 0,

$$\Phi(r) = \Phi_0 + r \nabla \Phi(0) + \frac{1}{2} \sum_i \sum_j x_i x_j \frac{\partial^2 \Phi_0}{\partial x_i \partial x_j} + \cdots,$$
(71)

onde x_i e x_j são coordenadas cartesianas temos que a energia de interação pode ser reescrita como

$$E_{int} = E^{(0)} + E^{(1)} + E^{(2)} + \cdots,$$
(72)

onde cada termo é representado por

$$E^{(0)} = \Phi_0 \int \rho(r) \, d^3r, \tag{73}$$

$$E^{(1)} = \sum_{i=1}^{3} \left(\frac{\partial \Phi}{\partial x_i}\right)_0 \int \rho(r) x_i d^3r$$
(74)

e

$$E^{(2)} = \frac{1}{2} \sum_{i,j} \left(\frac{\partial^2 \Phi}{\partial x_i \partial x_j} \right)_0 \int \rho(r) \, x_i x_j \, d^3 r \,. \tag{75}$$

O termo $E^{(0)}$ representa a energia de Coulomb associada ao potencial eletrostático na origem (r = 0) em um ponto externo em relação ao núcleo. O termo $E^{(1)}$ expressa a interação de dipolo elétrico entre o campo elétrico na origem e o momento de dipolo elétrico da distribuição da carga no núcleo. Os termos $E^{(0)}$ e $E^{(1)}$ serão desconsiderados, pois o primeiro não acrescenta informação relevante devido a sua independência com relação ao tamanho e ao formato nuclear, e o segundo se anula em razão da simetria dos termos envolvidos [87]. E finalmente, o termo $E^{(2)}$ expressa a interação entre o momento de quadrupolo elétrico nuclear e o gradiente do campo elétrico (GCE) no núcleo.

No termo de $E^{(2)}$, a quantidade

$$\left(\frac{\partial^2 \Phi}{\partial x_i \partial x_j}\right)_0 =: \Theta_{ij},\tag{76}$$

forma uma matriz 3x3 que pode ser diagonalizada por rotação de coordenadas [86]. Após a diagonalização de Θ_{ij} , o termo $E^{(2)}$ pode ser reescrito como soma dos termos E_c e E_Q

$$E^{(2)} = \frac{1}{2} \sum_{i} \Theta_{ii} \int \rho(r) x^{2}_{i} d^{3}r$$

$$= \underbrace{\frac{1}{6} \sum_{i} \Theta_{ii} \int \rho(r) r^{2} d^{3}r}_{E_{C}} + \underbrace{\frac{1}{2} \sum_{i} \Theta_{ii} \int \rho(r) (x^{2}_{i} - \frac{r^{2}}{3}) d^{3}r}_{E_{Q}}.$$
(77)

O termo de monopolo E_c descreve a interação eletrostática entre os elétrons e o núcleo e é responsável por um deslocamento nos níveis de energia do núcleo. Como estamos interessados no desdobramento dos níveis de energia do núcleo e não em seu deslocamento, o termo E_c será desprezado aqui. O desdobramento dos níveis de energia do núcleo é ocasionado pelo termo referente a interação de quadrupolo elétrico E_q . Uma vez definindo o momento quadrupolo clássico do núcleo Q_{ii} como

$$Q_{ii} = \frac{1}{e} \int \rho(r) \left(3x^2_{\ i} - r^2 \right) d^3r, \tag{78}$$

é possível simplificar o termo E_Q como

$$E_Q = \frac{e}{6} \sum_i \Theta_{ii} Q_{ii} .$$
⁽⁷⁹⁾

Segundo a equação de Poisson,

$$\nabla^2 \Phi = \sum_i \Theta_{ii} = \frac{e}{\epsilon_0} \rho(r) = \frac{e}{\epsilon_0} |\psi(0)|^2,$$
(80)

temos que a densidade eletrônica $\rho(r)$ no núcleo (r = 0) é devida somente pela densidade de probabilidade $|\psi(0)|^2$ dos elétrons *s*. Devido a simetria esférica dos orbitais *s*, representaremos as componentes Θ_{ii} por

$$\Theta_{ii} = V_{ii} + \frac{1}{3} (\Delta \Theta)_0, \tag{81}$$

onde $(\Delta \Theta)_0$ representa a soma das contribuições dos orbitais *s* e V_{ii} representa as contribuições dos orbitais restantes, no qual temos uma matriz de traço nulo, definida como $V_{xx} + V_{yy} + V_{zz} = 0$. Substituindo a equação (81) na equação (79), é possível verificar que a quantidade $\frac{1}{3}(\Delta \Theta)_0$ é uma constante e não contribui para E_Q , pois $\sum_i Q_{ii}$ é igual a zero. Portanto, reescrevendo novamente o termo de interação de quadrupolo nuclear E_Q temos

$$E_Q = \frac{e}{6} \sum_i V_{ii} Q_{ii}, \tag{82}$$

onde Vii representa as componentes do tensor gradiente do campo eletrico (GCE) dado por

$$V_{ij} = \lim_{r \to R} \left(\partial_i \partial_j - \frac{1}{3} \delta_{i,j} \nabla^2 \right) v(r),$$
(83)

sendo v(r) o potencial calculado no sítio R do núcleo.

Se a distribuição de carga no sítio nuclear for esfericamente simétrica, isto é, $V_{xx} = V_{yy} = V_{zz}$, o tensor GCE não contribui e a interação de quadrupolo E_Q é zero. No entanto, para uma distribuição não esfericamente simétrica, devido a matriz V_{ii} ter traço igual à zero, o tensor GCE pode ser bem definido por dois parâmetros. Escolhendo o eixo principal do sistema como $|V_{zz}| \ge |V_{yy}| \ge |V_{xx}|$ descreveremos o tensor GCE por V_{zz} e o parâmetro de assimetria η como

$$\eta = \frac{|V_{xx} - V_{yy}|}{|V_{zz}|}.$$
(84)

Por exemplo, no método PAW, através de um cálculo da estrutura eletrônica *all-eletron*, o potencial total v(r) é descrito com boa precisão em todas as regiões do espaço pela soma de três termos

$$v(r) = \tilde{v}(r) - \sum_{R} \tilde{v}_{R}^{1}(r) + v_{R}^{1}(r), \qquad (85)$$

onde o primeiro termo do potencial total $\tilde{v}(r)$ é chamado de pseudopotencial, sendo simplesmente a parte do potencial *all electron* da função de onda, e os outros dois termos são expansões de um centro atômico do pseudopotencial e do potencial *all electron* num sítio atômico *R*. Portanto, o tensor GCE pode ser calculado através de

$$V_{i,j} = \tilde{V}_{i,j} - \sum_{R} \tilde{V}_{i,j}^{1} + V_{i,j}^{1}.$$
(86)

3.2. Interação Hiperfina Magnética

A interação hiperfina magnética caracteriza as interações entre o spin s do elétron e os spins nucleares I dos núcleos na sua vizinhança. O momento angular de spin I do núcleo dá origem ao momento magnético nuclear μ_N ,

$$\boldsymbol{\mu}_{N} = g_{N} \beta_{N} \boldsymbol{I}, \tag{87}$$

sendo g_N o fator giromagnético nuclear e β_N o magnéton de Bohr, dado por $\beta_N = e\hbar/2m_p$, onde m_p é a massa do próton. Da mesma forma o momento angular de spin s dá origem ao momento magnético de spin μ_s dado por

$$\boldsymbol{\mu}_{\boldsymbol{s}} = -g_e \beta_e \boldsymbol{s},\tag{88}$$

sendo g_e o fator giromagnético para o elétron livre constante igual a 2,002319 ... e β_e o magnéton de Bohr eletrônico, dado por $\beta_e = e\hbar/2m_e$, onde m_e é a massa do elétron.

Para um ponto r externo ao núcleo ($r \neq 0$) o campo de indução magnética dipolar $B_d(r)$ criado pelo momento magnético μ_N é dado pela expressão clássica

$$\boldsymbol{B}_{d}(\boldsymbol{r}) = -\frac{\mu_{0}g_{N}\beta_{N}}{4\pi r^{3}} \left[\boldsymbol{I} - \frac{3\boldsymbol{r}(\boldsymbol{r}\cdot\boldsymbol{I})}{r^{2}} \right], \tag{89}$$

onde μ_0 é a permeabilidade do vácuo. A interação entre o momento magnético dipolar eletrônico μ_s e o campo B_d é uma interação dipolo-dipolo E_d dada por

$$E_d = -\boldsymbol{\mu}_s \cdot \boldsymbol{B}_d = \frac{\mu_0 g_e \beta_e g_N \beta_N}{4\pi r^3} \left[\boldsymbol{s} \cdot \boldsymbol{I} - 3\left(\frac{\boldsymbol{s} \cdot \boldsymbol{r}}{r}\right) \left(\frac{\boldsymbol{r} \cdot \boldsymbol{I}}{r}\right) \right].$$
(90)

No entanto, para pequenas distâncias do núcleo, a expressão (89) para o campo magnético dipolar B_d não é mais válida. Para contornar este problema é utilizada uma interação chamada de contato de Fermi E_c . A interação de contato considera que o momento magnético nuclear é originado a partir da circulação de densidades de correntes que circulam em pequenas espiras dentro do núcleo. Neste caso, o campo de indução $B_c(r)$ em r = 0 será dado por

$$\boldsymbol{B}_{c}(\boldsymbol{r}) = \frac{2\mu_{0}}{3}\mu_{N}\delta(\boldsymbol{r}), \qquad (91)$$

57

sendo $\delta(\mathbf{r})$ a função uma delta que se anula para $r \neq 0$. A contribuição energética chamada de termo de contato de Fermi E_c é dada por

$$E_{c} = -\boldsymbol{\mu}_{s} \cdot \boldsymbol{B}_{c} = \frac{2\mu_{0}}{3} g_{e}\beta_{e}g_{N}\beta_{N} \sum_{i,n} \int \phi_{ni}^{*} \,\delta(\boldsymbol{r})\phi_{ni}\boldsymbol{s} \cdot \boldsymbol{I}d\boldsymbol{r}$$

$$= \frac{2\mu_{0}}{3} g_{e}\beta_{e}g_{N}\beta_{N} \sum_{i,n} |\phi_{ni}(0)|^{2} m_{s_{i}}m_{I},$$
(92)

onde $|\phi_{ni}(0)|^2$ é a densidade de probabilidade de encontrar o elétron *n* no núcleo em r = 0, e m_{s_i} e m_I são os números quânticos magnéticos de spin.

A interação orbital E_L descreve a interação entre o momento magnético orbital eletrônico $\hbar \ell$ e o momento magnético nuclear μ_N . O momento magnético nuclear μ_N gera um campo de indução magnética derivado do potencial vetor $A(\mathbf{r})$ dado por

$$A(\mathbf{r}) = \frac{\mu_0}{4\pi} \frac{\mu_N \times \mathbf{r}}{r^3}.$$
(93)

Por sua vez, os elétrons geram uma densidade de corrente eletrônica dada por

$$J(\mathbf{r}) = -\frac{e\rho(\mathbf{r})}{m_e}\mathbf{p},\tag{94}$$

sendo $\rho(\mathbf{r})$ a densidade de probabilidade eletrônica e \mathbf{p} o momento linear do elétron. A interação entre o potencial vetor $\mathbf{A}(\mathbf{r}) \in \mathbf{J}(\mathbf{r})$ dá origem à interação orbital E_L

$$E_L = -\int \mathbf{A}(\mathbf{r}) \cdot \mathbf{J}(\mathbf{r}) \, d\mathbf{r} = \frac{\mu_0 e \mu_N}{4\pi m_e} \cdot \int \rho(\mathbf{r}) \frac{\mathbf{r} \times \mathbf{p}}{r^3} d\mathbf{r}.$$
(95)

Lembrando que $\mathbf{r} \times \mathbf{p} = \hbar \mathbf{\ell}$ e $\mathbf{\ell}$ é o momento angular em unidades de \hbar podemos reescrever a interação E_L como

$$E_L = \frac{\mu_0 e\hbar}{4\pi m_e} \int \frac{\boldsymbol{\mu}_N \cdot \boldsymbol{\ell}}{r^3} \rho(\boldsymbol{r}) d\boldsymbol{r}.$$
(96)

Se estivermos lidando com simetria esférica, os orbitais possuem momento angular constante, então a interação E_L fica

$$E_L = \frac{\mu_0}{4\pi} g_e \beta_e g_N \beta_N \frac{I \cdot L}{\langle r^3 \rangle},$$
(97)

onde L é o momento angular orbital total dos elétrons e $\langle 1/r^3 \rangle$ o valor médio no orbital atômico.

De modo geral, a interação hiperfina E_{HF} pode ser descrita pela interação dos campos magnéticos hiperfino B_{HF} e o momento magnético nuclear μ_N por

$$E_{HF} = -\boldsymbol{\mu}_N \cdot \boldsymbol{B}_{HF}, \tag{98}$$

no qual, é possível escrever classicamente o Hamiltoniano H a partir das três interações hiperfinas descritas acima como

$$H = \frac{\mu_0}{4\pi} g_e \beta_e g_N \beta_N \left\{ \frac{L}{r^3} - \left[\frac{s}{r^3} - \frac{3r(s \cdot r)}{r^5} \right] + \frac{8\pi}{3} \delta(r) s \right\} \cdot I,$$
(99)

onde a primeira contribuição do Hamiltoniano *H* se refere à interação orbital E_L , a segunda contribuição se refere à interação dipolar E_d e a última contribuição se refere à interação do contato de Fermi E_c . Considerando o momento eletrônico total J = L + S, o Hamiltoniano *H* pode ser reescrito como

$$H = \mathbf{J} \cdot \vec{A} \cdot \mathbf{I} = \mathbf{L} \cdot \vec{A} \cdot \mathbf{I} + \mathbf{S} \cdot \vec{A} \cdot \mathbf{I},$$
(100)

onde \overrightarrow{A} é um tensor (3x3) que parametriza o acoplamento hiperfino devido a interação entre o spin eletrônico total e o spin nuclear total.

De maneira geral, a previsão teórica de algumas propriedades é feita construindo um Hamiltoniano *H* capaz de extrair as energias para cada estado de spin por meio de equações de valores esperados. Considerando que a função de onda $|\psi^{\sigma}\rangle$ do estado de spin σ pode ser escrita como

$$|\psi^{\sigma}\rangle = |m_{S}^{\sigma}, m_{1}^{\sigma}, \dots, m_{N}^{\sigma}\rangle,$$
(101)

sendo m_s o número quântico de spin do elétron desemparelhado, e $m_1, ..., m_N$ os números quânticos do spin nuclear. O valor esperado da energia para um estado de spin σ , pode ser escrito

$$\langle \psi^{\sigma} | H | \psi^{\sigma} \rangle = \langle m_{S}^{\sigma}, m_{1}^{\sigma}, \dots, m_{N}^{\sigma} | H | m_{S}^{\sigma}, m_{1}^{\sigma}, \dots, m_{N}^{\sigma} \rangle = E(m_{S}^{\sigma}, m_{1}^{\sigma}, \dots, m_{N}^{\sigma}).$$
(102)

No código computacional ORCA [79], o tensor \vec{A} é calculado utilizando o tratamento relativístico utilizando a equação de Dirac sob a aproximação Zero Order Regular Aproximation (ZORA) [88] e através de métodos perturbativos obtem a contribuição de segunda ordem do acoplamento Spin-Órbita (SO), muito relevante para o cálculo do acoplamento hiperfino de metais de transição [89]. O formalismo de Dirac resolve o movimento de uma partícula carregada em campo magnético, no qual o momento p é substituído pelo momento canônico π dado por

$$\boldsymbol{\pi} = \boldsymbol{p} - q\boldsymbol{A},\tag{103}$$

onde A é potencial vetor devido ao campo magnético sentido pela partícula carregada com carga q.

Além disso, no código computacional ORCA, devido a contribuição referente a interação orbital E_L ser muito pequena na maioria dos experimentos de ressonância magnética, o efeito do momento magnético orbital eletrônico $\hbar \ell$ será incorporado na função de onda espacial modificada, ψ_L . Esta função de onda ψ_L pode ser determinada pela solução da equação de Schrödinger da Hamiltoniana aumentada com o operador \hat{H}_L que representam a dependência de L como

$$(\hat{H}_0 + \hat{H}_L)\psi_L = (E_0 + E_L)\psi_L,$$
 (104)

sendo $\hat{H}_L = \hat{H}(I, L)$ o operador construído a partir da interação E_L , \hat{H}_0 o Hamiltoniano eletrônico convencional e E_0 seu autovalor.

Portanto, o Hamiltoniano $\widehat{H}(S, I)$ que descreve a interação hiperfina magnética entre o operador spin eletrônico S e spin nuclear I pode ser escrito como

$$\widehat{H}(\boldsymbol{S},\boldsymbol{I}) = \sum_{A=1}^{N} \boldsymbol{S} \cdot \overrightarrow{A}_{A} \cdot \boldsymbol{I}_{A}, \qquad (105)$$

onde **S** é o operador de spin do estado fundamental e I_A o operador de spin nuclear para o isótopo A. Os elementos da matriz \vec{A} , denominada tensor de acoplamento hiperfino, são definidos como [89]

$$A_{\mu\nu} = \frac{\partial^2 E}{\partial S_{\mu} \partial I_{\nu}^{(A)}}.$$
 (106)

onde μ representa a componente do momento spin eletrônico *S* e ν a componente do momento de spin nuclear *I* do núcleo *A* nas direções *x*, *y* e *z*. Por sua vez, cada elemento $A_{\mu\nu}$ pode ser escrito como a soma de três partes

$$A^{A}_{\mu\nu} = A^{(ACF)}_{\mu\nu} + A^{(ADIP)}_{\mu\nu} + A^{(ASO)}_{\mu\nu}, \qquad (107)$$

sendo $A^{(ACF)}$ e $A^{(ADIP)}$ as interações provenientes do contato Fermi e do dipolo junto com contribuições de segunda ordem $A^{(ASO)}$.

A partir do conhecimento do estado fundamental da função de onda do orbital de spin ψ_L , ou daqui em diante ψ_0 , é possível obter as componentes dos autovalores das partes contato e dipolar como escrito abaixo

$$A_{\mu\nu}^{(ACF)} = \delta_{\mu\nu} \frac{8\pi}{3} \frac{\alpha}{2} \frac{1}{S} g_e \beta_N g_N^{(A)} \left\langle \psi_0 \right| \sum_i s_{zi} \,\delta(r_{iA}) \left| \psi_0 \right\rangle \tag{108}$$

e

$$A_{\mu\nu}^{(ADIP)} = \frac{\alpha}{2} \frac{1}{S} g_e \beta_N g_N^{(A)} \left| \psi_0 \right| \sum_i s_{zi} r_{iA}^{-5} \{ \delta_{\mu\nu} r_{iA}^2 - 3r_{iA,\mu} r_{iA,\nu} \} \left| \psi_0 \right|.$$
(109)

onde α é a constante de estrutura fina, S é o spin total no estado fundamental, s_{zi} é a componente z do spin total e o índice i está relacionado com os elétrons do sistema. O termo r_{iA} é igual a $|r_i - R_A|$, no qual r_i é a posição do elétron do elétron i e R_A é a posição do núcleo A.

A contribuição *SO* de segunda ordem pode ser abordada pelo tratamento perturbativo do campo auto-consistente acoplado perturbado (*Coupled-Perturbed Self-Consistent Field* - CP-SCF), assim como desenvolvido nas referências [89,90],

$$A_{\mu\nu}^{(ASO)} = -\frac{1}{S} \frac{\alpha}{2} \beta_N g_N^{(A)} \sum_{\sigma=\alpha,\beta} (-1)^{\delta_{\sigma\beta}} \sum_{i,a} U_{ia}^{\sigma;\mu} Im \left\{ \psi_i^{\sigma(0)} \right\| \sum_A \xi(r_{iA}) \, l_{\nu}^A(i) \left\| \psi_a^{\sigma(0)} \right\|, \tag{110}$$

onde $l_{\nu}^{A}(i)$ é o momento angular do elétron *i* relacionado ao núcleo *A*, $\psi_{i}^{\sigma(1)}$ são os orbitais perturbados de primeira ordem que podem ser escritos como a soma dos orbitais virtuais não perturbados $\psi_{a}^{\sigma(0)}$ de mesmo spin σ ($\sigma = \alpha \ ou \beta$),

$$\psi_i^{\sigma(1)}(\mathbf{r}) = \sum_{a \in \sigma} U_{ia}^{\sigma} \psi_a^{\sigma(0)}(\mathbf{r}), \tag{111}$$

em que *U* representa os coeficientes das funções de onda de primeira ordem, os índices *i* e *j* representam os orbitais ocupados e os índices *a* e *b* representam os orbitais desocupados não perturbados. O termo $\xi(r_{iA})$ é uma função de forma

$$\xi(r_{iA}) = \frac{\alpha^2}{2} \frac{Z_{ef}^A}{|r_i - R_A|^3}$$
(112)

no qual Z_{ef}^{A} é uma carga semi empírica efetiva nuclear escolhida para o isótopo A na posição \mathbf{R}_{A} tendo como referencial adotado o centro das cargas eletrônicas. Os valores de Z_{ef}^{A} foram parametrizados por Koseki *et al.* [91] para os átomos leves e da primeira linha de metais de transição da tabela periódica.

Finalmente, segundo a notação encontrada na referência [89], após a diagonalização do tensor \vec{A} em um sistema de eixos principais denominamos que o elemento da diagonal de maior valor é o $A_{||}$, e a média dos outros dois elementos da diagonal como A_{\perp} . Adotando a direção z do sistema de eixos principais como o da componente onde temos o maior acoplamento hiperfino, o valor de $A_{||}$ é dado pela interação entre as componentes na direção z do spin nuclear I_z do isótopo A e do spin eletrônico S_z e, consequentemente, o valor de A_{\perp} é dado por $(A_{yy} + A_{xx})/2$.

Capítulo 4

Resultados e Discussões

4.1. Estudo computacional de *Crown thioethers* coordenados à Prata e ao Cádmio

4.1.1. Dados experimentais da literatura

Com o intuito de desenhar complexos metálicos estáveis a serem utilizados na radioimunoterapia, B. Ctortecka e colaboradores investigaram experimentalmente a coordenação metálica dos ligantes *Crown thioethers* 18S6, 19S6-OH e 20S6-OH durante o decaimento nuclear ${}^{111}Ag \rightarrow {}^{111}Cd$ através da técnica TDPAC. Conforme explicado anteriormente na Introdução, a técnica TDPAC obtêm informações do tensor GCE do isótopo decaído, a saber, o Cd. Investigaremos a coordenação dos metais Ag e Cd nos *Crown thioethers* por meio da otimização estrutural e cálculos do GCE no sítio metálico confrontando com resultados da técnica TDPAC. No entanto, até o presente momento somente as estruturas cristalográficas dos complexos metálicos [Ag(18S6)][PF₆], [Ag(19S6-OH)][CF₃SO₄] e [Ag(20S6-OH)][BF₄] apresentadas na Tabela 4-1 estão

disponíveis no banco de dados "*Cambridge Crystallographic Data Centre*" (CCDC) [92], sendo que por célula unitária o cristal $[Ag(18S6)][PF_6]$ apresenta três complexos metálicos e três contra-íons $[PF_6]^-$ e, analogamente, os cristais $[Ag(19S6-OH)][CF_3SO_4]$ e $[Ag(20S6-OH)][BF_4]$ apresentam dois complexos metálicos e dois contra-íons. [24,25]

Complexos	Formula Química do sistema estudado	Grupo Espacial	Parâmetros de rede do Cristal	CCDC [92]
[Ag(18S6)][PF ₆]	$[C_{12}H_{24}S_{6}Ag][PF_{6}]$	Monoclínico I2/m	a = 5,295 Å b = 13,959 Å c = 13,951 Å $\beta = 95,15^{\circ}$	[25]
[Ag(19S6OH)][CF ₃ SO ₃]	$[C_{13}H_{26}S_6OAg][CF_3SO_3]$	Triclínico P-1	a = 10,76 Å b = 10,853 Å c = 11,326 Å $\alpha = 78,73^{\circ}$ $\beta = 73,47^{\circ}$ $\gamma = 74,99^{\circ}$	[24]
[Ag(20S6OH)][BF ₄]	[C ₁₄ H ₂₈ S ₆ OAg][BF ₄]	Triclínico P-1	a = 10,076 Å b = 10,525 Å c = 22,135 Å $\alpha = 93,32^{\circ}$ $\beta = 102,43^{\circ}$ $\gamma = 100,32^{\circ}$	[24]

Tabela 4-1. Dados cristalográficos disponíveis no banco de dados cristalográficos CCDC [92] para os complexos [Ag(18S6)][PF₆], [Ag(19S6-OH)][CF₃SO₃] e [Ag(20S6-OH)][BF₄] [24,25].

Os valores do tensor GCE (V_{zz}) no Cd²⁺ e do parâmetro de assimetria (η) obtidos por B. Ctortecka e colaboradores [43] para os complexos [Cd(18S6)]²⁺, [Cd(19S6-OH)][Tosylat]₂ e [Cd(20S6-OH)][CF₃SO₃]₂ em soluções resfriadas a temperatura 203, 7 e 12 K (e suas distribuições de frequência δ), respectivamente, utilizando a técnica TDPAC são reproduzidos na Tabela 4-2. Por meio das frequências quadrupolares ω_Q obtidas por TDPAC, o tensor V_{zz} foi inferido pela relação

$$\omega_Q = \frac{2\pi e Q V_{zz}}{4I(2I-1)h},\tag{113}$$

onde o estado intermediário de spin nuclear I = 5/2 e o momento quadrupolo Q = 0,83(13) *barns* estão associados ao decaimento nuclear ¹¹¹Ag \rightarrow ¹¹¹Cd.

Tabela 4-2. Resultados experimentais obtidos por B. Ctortecka e colaboradores [43] do tensor GCE no Cd²⁺ dos complexos [Cd(18S6)]²⁺, [Cd(19S6-OH)][Tosylat]₂ e [Cd(20S6-OH)][CF₃SO₃]₂ utilizando a técnica TDPAC.

Complexos	Temperatura ^[a]	$\omega_{Q}^{[b]}$	$V_{zz}^{[c]}$	η	$\delta^{\![d]}$
$[Cd(18S6)]^{2+}$	203	29,0	9,2	0,50	4
[Cd(19S6-OH)][Tosylat] ₂	7	36,5	11,6	0,52	9
[Cd(20S6-OH)][CF ₃ SO ₃] ₂	12	41	13	0,52	24

[a] K, [b] MRad/s, [c] 10^{21} V/m² [d] %.

4.1.2. Procedimento computacional

O procedimento computacional utilizou um complexo de Ag^+ extraído da célula unitária de cada cristal descrito na Tabela 4-1 para obtermos as posições dos *Crown thioethers* 18S6, 19S6-OH e 20S6-OH coordenados ao Cd, pois não existem na literatura informações cristalográficas disponíveis para estes complexos. Para obtermos uma estrutura confiável dos complexos $[Cd(18S6)]^n$, $[Cd(19S6-OH)]^n$ e $[Cd(20S6-OH)]^n$ após a otimização estrutural dos complexos coordenados a Ag^+ , substituímos o átomo de Ag^+ por Cd^+ ou Cd^{2+} , onde a carga total de cada complexo foi representada pelo estado de oxidação do metal coordenado. Portanto, representamos aqui os *Crown thioethers* 18S6, 19S6-OH e 20S6-OH como ligantes que formam os complexos metálicos $[X(18S6)]^n$, $[X(19S6-OH)]^n$ e $[X(20S6-OH)]^n$, sendo X igual a Ag ou Cd e o índice n representando a carga total. As geometrias dos complexos $[X(18S6)]^n$, $[X(19S6-OH)]^n$ e $[X(20S6-OH)]^n$ foram otimizadas utilizando o funcional PBE com a base PAW sob 30 Ry de corte para expansão da base de ondas planas, assim como as funções projetoras *Is*, para o H; *2s*, *2p* e *Id* para o C, o S, a Ag e o Cd no código computacional CP-PAW. Utilizamos células unitárias com dimensões de 14 Å x 20 Å x 20 Å para $[X(18S6)]^n$ e 17 Å x 20 Å x 20 Å para $[X(19S6-OH)]^n$ e $[X(20S6-OH)]^n$ de maneira a manter as moléculas suficientemente afastadas uma das outras (no mínimo 6 Å). A Figura 4-1 mostra um esquema destes três complexos metálicos.



Figura 4-1. Representações esquemáticas dos complexos [X(18S6)]ⁿ, [X(19S6-OH)]ⁿ e [X(20S6-OH)]ⁿ estudados neste trabalho.

Após o decaimento nuclear ${}^{111}Ag \rightarrow {}^{111}Cd$, o núcleo se torna mais positivo pois preservou o mesmo número de elétrons da Ag⁺. No caso de ligas metálicas ou cristais, devido à alta mobilidade e disponibilidade eletrônica, o processo de compensação pode ocorrer quando um elétron da banda de valência é adicionado à estrutura eletrônica "mais positiva" para neutralizar o sistema. Portanto, investigaremos os dois estados de oxidação possíveis para o o Cd, X=Cd⁺ e X=Cd²⁺, para verificar a possibilidade do processo de compensação ocorrer antes da medida TDPAC.

Uma vez que o tensor GCE na Ag ou no Cd está relacionado com a coordenação adquirida pelos metais, o procedimento computacional investigou as geometrias dos *Crown thioethers* coordenados com os metais Ag e Cd durante o decaimento nuclear ¹¹¹Ag \rightarrow ¹¹¹Cd, de modo a comparar os tensores GCE calculados com os resultados experimentais (Tabela 4-2). Para organizar o raciocínio, mostraremos na Figura 4-2 um exemplo do procedimento computacional adotado para obter as geometrias do complexo [X(18S6)]ⁿ. Os passos I e II mostram as estruturas [Ag(18S6)]⁺ antes (Posição 1) e depois (Posição 2) da otimização estrutural. O passo III representa a substituição do íon Ag⁺ por Cd⁺(SUB A) ou Cd²⁺(SUB B), considerando a esfera de coordenação da Ag⁺ (Posição 2). Finalmente, a estrutura do Passo IV é obtida depois da otimização estrutural da Posição 2 obtendo as Posições 3A e 3B, quando o Cd^+ ou Cd^{2+} é utilizado.



Figura 4-2. Esquema do procedimento computacional realizado para obter as estruturas antes e depois do decaimento ${}^{111}Ag \rightarrow {}^{111}Cd$ usando como exemplo o complexo [X(18S6)]ⁿ. As convenções de cores do átomos são: Dourado (S), Preto (C), Azul (Ag) e Verde (Cd). Os números dentro dos *Crown thioethers* representam as distâncias S-Ag e S-Cd em Å mostradas na Tabela 4-3.

4.1.3. Análise estrutural

As propriedades estruturais dos complexos $[Ag(18S6)]^+$, $[Ag(19S6-OH)]^+$ e $[Ag(20S6-OH)]^+$ foram descritas na seção 4.1.4. Porém, para a devida comparação entre as posições 1 a 3 indicadas na Figura 4-2, na Tabela 4-3 são apresentadas as distâncias S-Metal experimentais (Raios-X) e calculadas (Otimizado).

		X=Ag ⁺	$X = Ag^+$	$X=Cd^+$	$X = Cd^{2+}$
		Raios-X ^[a]	Otimizado	Otimizado	Otimizado
		Posição 1	Posição 2	Posição 3A	Posição 3B
[X(18S6)]	S1-X	2,6665(12) Å	2,818 Å	3,066 Å	2,844 Å
	S2-X	2,6665(12) Å	2,818 Å	3,107 Å	2,844 Å
	S3-X	2,7813(10) Å	2,829 Å	3,125 Å	2,837 Å
	S4-X	2,7813(10) Å	2,828 Å	3,103 Å	2,837 Å
	S5-X	2,7813(10) Å	2,828 Å	3,103 Å	2,837 Å
	S6-X	2,7813(10) Å	2,829 Å	3,125 Å	2,837 Å
[(HO-9S61)X]	S1-X	3,553(3) Å	3,684 Å	3,334 Å	2,907 Å
	S2-X	2,644(2) Å	2,722 Å	3,188 Å	2,890 Å
	S3-X	2,573(2) Å	2,666 Å	3,167 Å	2,821 Å
	S4-X	3,269(3) Å	3,279 Å	3,250 Å	2,915 Å
	S5-X	2,655(3) Å	2,804 Å	3,127 Å	2,884 Å
	S6-X	2,551(2)) Å	2,600 Å	3,130 Å	2,812 Å
[X(20S6-OH)]	S1-X	2,685(2) Å	2,662 Å	3,131 Å	2,835 Å
	S2-X	4,502(2) Å	4,626 Å	4,191 Å	2,999 Å
	S3-X	2,725(2) Å	2,710 Å	3,073 Å	2,820 Å
	S4-X	2,582(2) Å	2,634 Å	3,132 Å	2,887 Å
	S5-X	3,719(2) Å	3,985 Å	3,228 Å	2,924 Å
	S6-X	2,604(2) Å	2,662 Å	3,071 Å	2,840 Å

Tabela 4-3. Distâncias S-X dos *Crown thioeters* coordenados com X=Ag⁺/Cd⁺/Cd²⁺.

[a] [24,25].

Os complexos de Cd⁺ foram construídos utilizando como base as estruturas otimizadas dos complexos de Ag⁺ e substituindo o íon Ag⁺ pelo íon Cd⁺ (veja SUB A no Passo III da Figura 4-2). O efeito estrutural geral deste estado de carga após a otimização geométrica foi a expulsão do íon Cd⁺ do anel em todos os *Crown thioethers* devido principalmente ao aumento das distâncias S-Cd equatoriais em até 0,5 Å conforme observado na Tabela 4-3. Embora tenha ocorrido a contração das distâncias S-Cd axiais em até 0,7 Å no caso dos complexos [Cd(19S6-OH)]⁺ e [Cd(20S6-OH)]⁺, após a otimização estrutural os comprimentos de todas as distâncias S-Cd foram maiores que 3 Å confirmando a instabilidade dos complexos de Cd⁺ conforme mostrado na Figura 4-3. No caso do

complexo [Cd(18S6)]⁺, a comparação entre as distâncias S-Cd mostradas na Tabela 4-3 antes (Posição 2) e depois (Posição 3A) da otimização estrutural mostrou que os átomos de S foram deslocados igualmente em 0,3 Å do íon de Cd⁺.



Figura 4-3. Comportamento da coordenação dos íons metálicos Cd⁺ e Cd²⁺ nos sistemas [X(18S6)]ⁿ, [X(19S6-OH)]ⁿ e [X(20S6-OH)]ⁿ após a relaxação estrutural. Os átomos de hidrogênios foram retirados para facilitar a visualização. As convenções de cores do átomos são: amarelo (S), azul esverdiado (C), vermelho (O) e verde (Cd).

As geometrias obtidas para os complexos de Cd^{2+} , utilizando como base as estruturas otimizadas dos complexos de Ag^+ (veja SUB B no Passo III da Figura 4-2), após a otimização estrutural mostraram que a coordenação metálica dos átomos de S foi octaédrica distorcida (veja Tabela 4-3). Embora as geometrias iniciais (Posição 2) dos complexos $[Cd(19S6-OH)]^{2+}$ e $[Cd(20S6-OH)]^{2+}$ apresentassem coordenações tetraédrica distorcidas, após a otimização estrutural, as distâncias S-Cd equatoriais aumentaram em até 0,2 Å, e as distâncias axiais diminuíram em até 1,7 Å, obtendo a coordenação octaédrica distorcida do Cd^{2+} . No caso do complexo $[Cd(18S6)]^{2+}$, a coordenação octaédrica distorcida permaneceu a mesma devido ao tamanho pequeno do ligante 18S6, que apresenta baixa flexibilidade para mudar a esfera de coordenação.

A mudança no estado de carga do íon Cd afetou fortemente a repulsão Coulombiana, conforme verificado pela comparação dos comportamentos estruturais obtidos para os íons Cd^+ e Cd^{2+} . Pois, devido a repulsão S-Metal ser menor para Cd^{2+} , e as distâncias S- Cd^{2+} são menores que as distâncias encontradas para os complexos de Cd^+ , porém maiores que as distâncias referentes as estruturas otimizadas com Ag⁺ (Tabela 4-3), devido ao menor tamanho do íon Ag⁺.

4.1.4. A influência do contra-íon

Devido ao fato de que as medidas do experimento TDPAC não foram realizadas com os mesmos contra-íons utilizados para obter as estruturas cristalográficas (Tabela 4-1), investigamos a influência da presença dos contra-íons com o objetivo de verificar se existem mudanças significativas na coordenação do metal e no valor do tensor GCE calculado para os *Crown thioethers* 18S6, 19S6-OH e 20S6-OH coordenados a Ag^+ .

Os sistemas estudados $[Ag(18S6)][PF_6]$, $[Ag(19S6-OH)][CF_3SO_4]$ e $[Ag(20S6-OH)][BF_4]$ na presença dos contra-íons foram construídos extraindo de cada célula unitária do cristal um complexo metálico e o respectivo contra-íon, e em seguida realizamos a otimização estrutural do sistema neutro no vácuo. As distâncias teóricas e experimentais S-Ag e contra-íon-Ag mostradas na Tabela 4-4 apresentaram um bom acordo com as estruturas cristalográficas $[Ag(19S6-OH)][CF_3SO_4]$ e $[Ag(20S6-OH)][BF_4]$, pois observamos que a coordenação tetraédrica distorcida da Ag exibe duas distâncias S-Ag axiais maiores que 3 Å, e 4 distâncias S-Ag equatoriais menores que 3 Å. O comportamento anômalo observado para a coordenação octaédrica distorcida na Ag no sistema cristalino $[Ag(18S6)][PF_6]$ será discutido e explicado após o estudo da otimização geométrica com Cd.

Em geral, após a otimização estrutural na presença do contra-íon, nos três complexos as distâncias S-Ag equatoriais e axiais aumentaram em até 0,23 e 0,38 Å, respectivamente, sendo a única exceção a distância S4-Ag do complexo [Ag(19S6-OH)][CF₃SO₃], que é a mais próxima do contra-íon, diminui em torno de 0,18 Å. As distâncias contra-íon-Ag foram sistematicamente reduzidas em até 0,3 Å para o complexo [Ag(18S6)][PF₆], e em até 0,7 Å para os complexos [Ag(19S6-OH)][CF₃SO₄] e [Ag(20S6-OH)][BF₄] conforme mostrado na Tabela 4-4.
Para construirmos os sistemas $[Ag(18S6)]^+$, $[Ag(19S6-OH)]^+$ e $[Ag(20S6-OH)]^+$ na ausência dos contra-íons utilizamos o mesmo procedimento anterior considerando a carga total destes complexos igual a +1 devido ao estado de oxidação da Ag. Após a otimização geométrica dos complexos $[Ag(18S6)]^+$, $[Ag(19S6-OH)]^+$ e $[Ag(20S6-OH)]^+$ observamos que semelhantemente aos cálculos realizados na presença de contra-íons as distâncias S-Ag equatoriais e axiais aumentaram em até 0,15 e 0,26 Å, respectivamente, conforme mostrado na Tabela 4-4. Além disso, a coordenação obtida foi a mesma das posições do Raios-X, isto é, octaédrico distorcida para $[Ag(18S6)]^+$ e tetraédrico distorcida para $[Ag(19S6-OH)]^+$ e $[Ag(20S6-OH)]^+$.

Tabela 4-4. Distâncias S-Ag e contra-íon-Ag das posições experimentais (Raios-X [24,25]) e calculadas (Otimizado) para os complexos de Ag.

Complexos	Posição	S1-Ag	S2-Ag	S3-Ag	S4-Ag	S5-Ag	S6-Ag	Contra-íon-Ag
[Ag(18S6)][PF ₆]	Raios-X	2,67 Å	2,67 Å	2,78 Å	2,78 Å	2,78 Å	2,78 Å	6,98 Å
[Ag(18S6)][PF ₆]	Otimizado	2,85 Å	2,72 Å	2,76 Å	2,76 Å	2,96 Å	2,96 Å	6,65 Å
$[Ag(18S6)]^+$	Otimizado	2,82 Å	2,82 Å	2,83 Å	2,83 Å	2,83 Å	2,83 Å	-
[Ag(19S6-OH)][CF ₃ SO ₃]	Raios-X	3,55 Å	2,64 Å	2,57 Å	3,26 Å	2,65 Å	2,55 Å	5,78 Å
[Ag(19S6-OH)][CF ₃ SO ₃]	Otimizado	3,93 Å	2,72 Å	2,69 Å	3,08 Å	2,75 Å	2,64 Å	5,05 Å
$[Ag(19S6-OH)]^+$	Otimizado	3,68 Å	2,72 Å	2,66 Å	3,28 Å	2,80 Å	2,60 Å	-
[Ag(20S6-OH)][BF ₄]	Raios-X	2,58 Å	4,50 Å	2,60 Å	2,59 Å	3,72 Å	2,60 Å	5,04 Å
[Ag(20S6-OH)][BF ₄]	Otimizado	2,66 Å	4,86 Å	2,83 Å	2,61 Å	3,86 Å	2,64 Å	4,32 Å
$[Ag(20S6-OH)]^+$	Otimizado	2,66 Å	4,63 Å	2,71 Å	2,63 Å	3,98 Å	2,66 Å	-

Embora não se tenham informações experimentais disponíveis sobre do tensor GCE na Ag⁺, a comparação é necessária para verificarmos a influência do contra-íon na interação hiperfina elétrica, após a otimização geométrica. O tensor GCE (V_{zz}) e o parâmetro de assimetria (η) calculados na posição da Ag⁺ usando as posições dos Raios-X e as geometrias otimizadas com e sem contra-íons são mostradas na Tabela 4-5. A comparação entre os GCEs calculados mostrou que o sítio da Ag⁺ não é influenciado pela presença do contra-íon. Primeiramente, comparando os valores do GCE nas posições dos Raios-X com e sem contra-íon, as variações do V_{zz} e do η são menores que 0,2 x 10²¹ V/m² e 0,1, respectivamente, e após a otimização estrutural, somente pequenas variações de até 1,3 x 10^{21} V/m² no V_{zz} e 0,3 no η foram observadas.

Tabela 4-5. O tensor GCE (V_{zz}) e o parâmetro de assimetria (η) para os ligantes 1886, 1986-OH e 2086-OH coordenados a Ag⁺ na presença e na ausência dos contra-íons nas posições experimentais (Raios-X) e calculadas (Otimizado).

Complexos	Posição	V_{zz} ^[a]	η
[A~(1956)][DE]	Raios-X	6,6	0,6
$[Ag(1850)][FF_6]$	Otimizado	5,8	0,1
[A g(18S6)] ⁺	Raios-X	6,5	0,6
	Otimizado	5,4	0,1
	Raios-X	8,9	0,8
[Ag(1930-OH)][CF ₃ 5O ₃]	Otimizado	6,9	0,5
[A ~(1056 OID)] ⁺	Raios-X	9,1	0,7
[Ag(1950-OH)]	Otimizado	8,2	0,4
	Raios-X	8,8	0,4
[Ag(2030-011)][BF4]	Otimizado	8,9	0,5
	Raios-X	8,7	0,3
[Ag(2056-OH)]	Otimizado	7,8	0,2
$[a] 10^{21} \text{ W/m}^2$			

[a] 10^{21} V/m².

Portanto, devido a pequena influência da presença do contra-íon nas propriedades estruturais e no tensor GCE, não consideraremos os contra-íons em cálculos posteriores.

4.1.5. Análise do Gradiente do Campo Elétrico

O tensor GCE no metais Ag e Cd foi calculado para cada uma das estruturas obtidas segundo o procedimento computacional para a devida comparação com o V_{zz} experimental. Na Tabela 4-6 apresentamos os valores do tensor do GCE para os *Crown thioethers* coordenados a Ag⁺ para as posições de Raios-X (Posição 1) e otimizada (Posição 2). Embora, não existam informações experimentais sobre a interação hiperfina no sítio da Ag⁺, a comparação dos $V_{zz}s$ teóricos é importante para observarmos a influência da otimização estrutural e da substituição do sítio da Ag⁺ por Cd^{+/2+} sobre o tensor GCE.

	Posiçã	io 2		
Complexos	V_{zz} ^[b]	η	V _{zz} [b]	η
$[Ag(18S6)]^+$	6,5	0,6	5,4	0,1
$[Ag(19S6-OH)]^+$	9,1	0,7	8,2	0,4
$\left[\operatorname{Ag}(20\text{S6-OH})\right]^+$	8,7	0,3	7,8	0,2

Tabela 4-6. O tensor GCE (V_{zz}) e o parâmetro de assimetria (η) para o sítio Ag⁺ calculados para os complexos [Ag(18S6)]⁺, [Ag(19S6-OH)]⁺ e [Ag(20S6-OH)]⁺. O cálculo do tensor GCE foi realizado utilizando as estruturas experimentais de Raios-X (Posição 1) e otimizadas (Posição 2).

[a] [24,25]. [b] 10^{21} V/m².

A Tabela 4-6 mostra que o valor do V_{zz} para o sítio Ag⁺ nas posições de Raios-X (Posição 1) é 1,0 x 10²¹ V/m² maior que aqueles obtidos nas estruturas otimizadas (Posição 2) e que o parâmetro de assimetria η é mais sensível à otimização estrutural, pois o comportamento comum em todos os casos foi o decréscimo do valor do parâmetro de assimetria η , onde o complexo [Ag(18S6)]⁺ apresentou a maior variação observada para η , embora seja o menor *Crown thioeter*.

Com o intuito de analisar as mudanças na estrutura eletrônica causadas pela substituição do íon Ag^+ pelo íon $Cd^{+/2+}$, compararemos os tensores GCE obtidos para as geometrias dos passos II, III e IV do procedimento computacional. Enquanto que segundo a Tabela 4-7, a substituição da Ag^+ pelo íon Cd^+ sistematicamente aumenta o valor do V_{zz} em 1,0 x 10^{21} V/m² para o complexo [Cd(18S6)]⁺, e em 2,4 x 10^{21} V/m² para os complexos [Cd(19S6-OH)]⁺ e [Cd(20S6-OH)]⁺; e o valor de η quase não muda (compare com os resultados mostrados na Tabela 4-6). Por outro lado na Tabela 4-7, os tensores GCEs calculados para as geometrias antes (Posição 2) e depois (Posição 3A) da otimização estrutural, diminuíram substancialmente em até 7,5 x 10^{21} V/m², e para η aumentaram em até 0,6. De forma geral, durante o decaimento nuclear, observarmos que a mudança do tensor GCE foi mais sensível após a otimização estrutural do que quando ocorreu a troca do sítio Ag^+ pelo Cd⁺.

	Posiç	Posição 2		Posição 3A	
Complexos	$V_{zz}^{[a]}$	η	$V_{zz}^{[a]}$	η	
$[Cd(18S6)]^+$	6,3	0,1	1,3	0,5	
[Cd(19S6-OH)] ⁺	10,5	0.3	3.0	0.9	

0,2

5,3

0,4

10,2

Tabela 4-7. O tensor GCE (V_{zz}) e o parâmetro de assimetria (η) calculados para o sítio Cd⁺ dos complexos $[Cd(18S6)]^+$, $[Cd(19S6-OH)]^+$ e $[Cd(20S6-OH)]^+$ nas estruturas otimizadas da Ag⁺ (Posição 2) e do Cd⁺ (Posição 3A).

[a] 10^{21} V/m².

 $[Cd(20S6-OH)]^+$

Os valores dos tensores GCE no sítio do Cd^{2+} das estruturas otimizadas da Ag^+ (Posição 2) e após as relaxações estruturais (Posição 3B) são mostradas na Tabela 4-8. A substituição da Ag^+ pelo Cd^{2+} (Posição 2 na Tabela 4-6 e na Tabela 4-8) ocasionou o aumento de todos os valores de V_{zz} , em até 3,0 x 10^{21} V/m², e uma pequena variação no valor de η , somente notado no caso do complexo [Cd(19S6-OH)]²⁺. Como visto na Tabela 4-8, após a otimização estrutural dos complexos [Cd(19S6-OH)]²⁺ e [Cd(20S6-OH)]²⁺ (Posição 3B), os valores de V_{zz} foram reduzidos pela metade e os valores de η foram duplicados. No caso do complexo [Cd(18S6)]²⁺, a esfera de coordenação não mudou após as relaxações estruturais, e V_{zz} e η mantiveram os mesmos valores.

Tabela 4-8. O tensor GCE (V_{zz}) e o parâmetro de assimetria (η) calculados para o sítio Cd²⁺ dos complexos $[Cd(18S6)]^{2+}$, $[Cd(19S6-OH)]^{2+}$ e $[Cd(20S6-OH)]^{2+}$ nas estruturas otimizadas da Ag⁺ (Posição 2) e do Cd²⁺ (Posição 3B).

	Posiçã	ăo 2	Posição 3B		
Complexos	$V_{zz}^{[a]}$	η	$V_{zz}^{[a]}$	η	
$[Cd(18S6)]^{2+}$	7,3	0,1	7,0	0,0	
$[Cd(19S6-OH)]^{2+}$	10,9	0,3	5,5	0,8	
$[Cd(2086-OH)]^{2+}$	10,8	0,2	5,2	0,5	

[a] 10^{21} V/m².

Os tensores GCE calculados nos sítios Cd^+ e Cd^{2+} (Posição 2) mostrados na Tabela 4-7 e na Tabela 4-8 apresentaram valores similares, pois somente variações desprezíveis na simetria da distribuição local de carga dos íons Cd^+ e Cd^{2+} eram esperadas. Comparando as estruturas eletrônicas dos complexos de Cd^+ e Cd^{2+} , por exemplo para o sistema $[X(18S6)]^n$ (Figura 4-4), vemos que o nível de energia introduzido pelo elétron extra no íon Cd⁺ tem o caráter simétrico (orbital *s*), o que não contribui para o cálculo do tensor GCE. Além disso, este nível de energia eletrônico dos sistemas com Cd⁺ localizado próximo ao mais baixo orbital molecular não ocupado (LUMO – *Lowest Unoccupied Molecular Orbital*) ocasiona uma grande instabilidade estrutural após a otimização geométrica. A possibilidade de compensação devido à alta mobilidade e disponibilidade eletrônica é improvável, pois como esperado, a configuração eletrônica nos complexos de Cd⁺ é altamente instável devido a pequena separação de energia entre o mais alto orbital molecular ocupado (HOMO – *Highest Occupied Molecular Orbital*) e o LUMO quando comparada com os complexos de Cd²⁺.



Figura 4-4. Níveis de energia eletrônicos, em eV, e os orbitais moleculares de fronteira HOMO e LUMO calculados para os complexos [Cd(18S6)]⁺(a) e [Cd(18S6)]²⁺(b) na Posição 2. No caso do complexo [Cd(18S6)]⁺, os orbitais moleculares e os níveis de energia são mostrados para duas direções de spin.

Portanto, desconsideraremos a hipótese de que ocorra a compensação antes que a medida TDPAC seja realizada e compararemos somente os tensores GCE calculados para os complexos de Cd²⁺ com os resultados de B. Ctortecka e colaboradores reproduzidos na Tabela 4-2. Após a investigação dos efeitos da troca do sítio nuclear, da Ag⁺ para o Cd²⁺, e da otimização estrutural sobre o valor do tensor GCE podemos encontrar uma boa concordância entre os valores dos $V_{zz}s$ obtidos para as geometrias da posição 2 (Tabela 4-8) e os resultados experimentais da técnica TDPAC mostrados na Tabela 4-2. Por outro lado, os valores do GCE teóricos depois da otimização estrutural (Posição 3B na Tabela 4-8) diferem bastante dos valores experimentais. Desde que o GCE é uma impressão digital da simetria da distribuição de carga na vizinhança do sítio no qual o tensor GCE é medido (ou calculado), podemos concluir que as estruturas dos complexos para os átomos de prova ¹¹¹Cd correspondem à aquelas antes da otimização estrutural (Posição 2), isto é, os sítios de S das estruturas dos *Crown thioethers* não relaxaram completamente após do decaimento nuclear ¹¹¹Ag \rightarrow ¹¹¹Cd, durante o tempo de medida TDPAC.

A explicação do fato que as estruturas otimizadas (Posição 3B) não correspondem às observadas no experimento TDPAC pode ser associado à característica do decaimento nuclear ¹¹¹ $Ag \rightarrow$ ¹¹¹Cd. O íon ¹¹¹Ag decai para o ¹¹¹Cd via emissão β^- para um estado excitado de energia 342 eV, durante um tempo de vida de 27 ps e, depois disso, o núcleo de ¹¹¹Cd decai via emissão γ . A emissão do primeiro raio γ popula um estado intermediário com número quântico de spin nuclear I = 5/2 +, de 245 eV e tempo de vida de 84,5 ns, e a emissão do segundo raio γ despopula este estado com I = 5/2 +. Durante o tempo de vida deste estado intermediário, 84,5 ns, a interação hiperfina perturba as correlações espacial e temporal do raios γ emitidos, e a partir desta perturbação o GCE é medido. Por esta razão, é possível estabelecer um intervalo de tempo de 27 ps do estado excitado do ¹¹¹Cd de 342 KeV entre a transição ¹¹¹Ag \rightarrow ¹¹¹Cd e a abertura da janela de tempo da medida TDPAC. Portanto, se a relaxação estrutural necessita mais do que 27 ps para ser completa, o GCE medido será aquele correspondente a estrutura não otimizada (Posição 2) ou uma média das estruturas em diferentes estágios de relaxação estrutural. Esta hipótese também explica a distribuição de frequências relativamente grandes observadas nos experimentos (9% e 24% nos casos dos complexos [X(19S6-OH)] e [X(20S6-OH)] e 4% no caso de [X(18S6)]).

4.2. Caracterização estrutural e acoplamento hiperfino de complexos de Cobre

Estudamos aqui a relação entre o acoplamento hiperfino magnético no cobre e a sua coordenação no complexo [Cu(isaenim)]^{2+/+}. Devido a não existir até o presente momento uma estrutura cristalográfica do complexo [Cu(isaenim)]^{2+/+} investigamos os efeitos da coordenação metálica em um complexo de cobre com características estruturais similares a fim de escolhermos um bom funcional para o esquema de KS da DFT e uma base adequada para descrever as distâncias Cu-L no vácuo. O efeito do solvente, sobre a geometria de coordenação do ligante *isaenim*, foi investigado utilizando duas abordagens de dinâmica molecular: a clássica e a híbrida QMMM. O acoplamento hiperfino no cobre foi estudado utilizando como balizamento o complexo [CuCl₄]²⁻ que possui propriedades estruturais e hiperfinas magnéticas já bem caracterizadas, tanto do ponto de vista experimental como teórico, pela comunidade científica [93]. O procedimento desenvolvido no estudo do [CuCl₄]²⁻ foi então utilizado para avaliar o acoplamento hiperfino no cobre durante o equilíbrio ceto-enol observado para o complexo [Cu(isaenim)]^{2+/+}.

Na seção 4.2.1 investigamos a coordenação do Cu no complexo [Cu(isaenim)]^{2+/+} no vácuo e sob o efeito de solvente explícito. Na seção 4.2.2 realizamos o cálculo do acoplamento hiperfino no metal para as estruturas selecionadas na análise estrutural (seção 4.2.1).

4.2.1.Análise Estrutural do complexo de Cobre [Cu(isaenim)]^{2+/+}

4.2.1.1. Análise Estrutural no vácuo

A análise estrutural no vácuo foi baseada na geometria do complexo [Cu(isaenim)]²⁺ obtida teoricamente na literatura [94] utilizando o esquema KS dentro da

DFT conforme implementado nos códigos computacionais CP-PAW e Gaussian09(G09). A geometria do complexo foi otimizada utilizando o funcional PBE com a base PAW sob 40 Ry de corte para expansão da base de ondas planas, assim como as funções projetoras *1s*, para o H; *2s*, *2p* e *1d* para o C e N; e *2s*, *2p* e *3d* para o Cu, no caso do CP-PAW. No caso do G09, o complexo foi otimizado utilizando o funcional BP86 com a base TZVP. Embora, as duas geometrias obtidas na literatura [94] apresentem distâncias Cu-L semelhantes, a saber com diferenças menores do que 0,013 Å, a comparação entre uma geometria obtida experimentalmente e a teórica se faz importante. Por este motivo, buscamos no banco de dados CDCC um complexo de cobre estruturalmente similar ao [Cu(isaenim)]²⁺, para o qual informações cristalográficas estariam disponíveis. Encontramos ao redor de 9800 estruturas cristalográficas contendo o cobre coordenado a 4 nitrogênios. O cristal do complexo (N,N'-bis(5-metil-4-imidazolilmetilidene)propane-1,2-diamino)-cobre(II), que denominaremos [Cu(baghat)]²⁺, com dois contra-íons [ClO₄]⁻ [18], foi então selecionado devido à grande similaridade estrutural com o [Cu(isaenim)]²⁺. A Figura 4-5 mostra os complexos [Cu(baghat)]²⁺ e [Cu(isaenim)]²⁺.



Figura 4-5. Representação esquemática dos complexos: a) $[Cu(baghat)]^{2+}$ e b) $[Cu(isaenim)]^{2+}$ na forma ceto. As convenções de cores dos átomos são: verde (C), branca (H), azul (N), vermelha (O) e dourada (Cu).

A geometria do complexo [Cu(baghat)]²⁺ foi otimizada no vácuo com os códigos computacionais MOPAC, CP-PAW e G09 utilizando: a) o método semi-empírico PM6 [95], no caso do MOPAC; b) o funcional PBE com uma função de onda eletrônica convergida sob corte de ondas planas de 80 Ry no caso do CP-PAW; e c) os funcionais

BP86, B3LYP e PBE0 sob as bases 6-31+G(d,p), 6-31++G(d,p), TZVP e QZVP com o G09. Os resultados obtidos para o $[Cu(baghat)]^{2+}$ no vácuo são apresentados na Tabela 4-9, onde as distâncias Cu-L são indicadas segundo a notação dos átomos da Figura 4-5a.

Tabela 4-9. Distâncias (Å) Cu-L no complexo [Cu(baghat)]²⁺ obtidas no vácuo, utilizando diferentes códigos computacionais, funcionais e bases. Também é apresentado o resultado experimental da literatura [18] para a fase sólida. As designações dos átomos são as indicadas na Figura 4-5a.

Código Computacional	Funcional	Base	d(Cu-NP1)	d(Cu-N1)	d(Cu-N2)	d(Cu-NP2)
MOPAC	PM6		1,931	1,888	1,883	1,935
CP-PAW	PBE	PAW	2,003	1,987	1,978	2,012
G09	BP86	6-31+G(d,p)	2,008	1,988	1,980	2,017
		6-31++G(d,p)	2,008	1,988	1,980	2,018
		TZVP	2,019	1,998	1,990	2,027
		QZVP	2,003	1,991	1,984	2,010
	B3LYP	6-31+G(d,p)	2,020	1,989	1,981	2,030
		6-31++G(d,p)	2,020	1,989	1,980	2,030
		TZVP	2,030	1,998	1,989	2,040
		QZVP	2,013	1,994	1,986	2,021
	PBEO	6-31+G(d,p)	2,000	1,968	1,963	2,007
		6-31++G(d,p)	2,000	1,968	1,962	2,007
		TZVP	2,011	1,976	1,971	2,018
		QZVP	1,995	1,973	1,968	2,000
Experimental [18]			1,974±0,004	1,965±0,004	1,955±0,004	1,980±0,004

Tomando os valores das distâncias Cu-L experimentais como referência, notamos que o método semi-empírico PM6 é o que pior descreveu as distâncias aqui consideradas. As otimizações estruturais sob os funcionais PBE, BP86 e B3LYP exibiram distâncias Cu-L razoavelmente satisfatórias, porém, sistematicamente maiores que as obtidas com o funcional PBE0. Em especial, observamos que o funcional PBE0 com a base 6-31+G(d,p) obteve um valor para a distância Cu-N1 dentro do erro experimental. Entretanto, escolheremos aqui para a análise estrutural, o funcional PBE0 sob a base QZVP, pois as distâncias Cu-NP1 e Cu-NP2 são mais próximas às experimentais na fase sólida.

Uma vez que averiguamos a descrição computacional das distâncias Cu-L com diferentes funcionais e bases, realizamos a otimização estrutural do complexo [Cu(isaenim)]²⁺ no vácuo com o funcional PBE0 e base QZVP. Na Tabela 4-10

apresentamos as distâncias Cu-L obtidas no presente trabalho para o complexo $[Cu(isaenim)]^{2+}$ com o funcional PBE0 e base QZVP e comparamos com os resultados da literatura [94] utilizando o funcional BP86 e a base TZVP.

Tabela 4-10. Distâncias (Å) Cu-L no complexo [Cu(isaenim)]²⁺ obtidas no vácuo utilizando o código computacional G09. As designações dos átomos são as indicadas na Figura 4-5a.

Funcional	Base	d(Cu-NP)	d(Cu-N1)	d(Cu-N2)	d(Cu-O)
BP86 [94]	TZVP	1,987	1,977	1,973	2,051
PBE0	QZVP	1,971	1,954	1,960	2,011

Em particular, vemos que, analogamente ao observado no caso do [Cu(baghat)]²⁺ (Tabela 4-9), os resultados com o funcional PBE0(QZVP) produzem distâncias sistematicamente menores do que as obtidas com o funcional BP86(TZVP).

4.2.1.2. Análise estrutural no solvente explícito

As medidas de EPR foram realizadas em soluções aquosas congeladas à 203 K. Por este motivo realizamos simulações de dinâmica molecular em solvente explícito para o complexo $[Cu(isaenim)]^{2+}$ de forma clássica, na seção 4.2.1.2.1, e sob a aproximação híbrida QMMM, na seção 4.2.1.2.2, de modo a investigar as distâncias de coordenação Cu-L e Cu-O^{água}, sendo O^{água} os oxigênios das moléculas de água axiais ao metal.

4.2.1.2.1. Dinâmica Molecular Clássica para o complexo [Cu(isaenim)]²⁺ em solvente explícito

A simulação de dinâmica molecular clássica de complexos de cobre exige a correta parametrização que descreva as interações ligadas e não ligadas entre o metal e os átomos de oxigênio e nitrogênio. Utilizamos para a dinâmica molecular clássica os parâmetros [54](Apêndice A) obtidos para o complexo de cobre $[Cu(enim)H_2O]^{2+}$ estruturalmente similar ao $[Cu(isaenim)]^{2+}$. Como geometria inicial utilizamos as posições atômicas obtidas com o funcional PBE0 e base QZVP na seção 4.2.1.1. No entanto, para a

obtenção das cargas do complexo $[Cu(isaenim)]^{2+}$ através do método RESP [47] foi utilizado método de solvatação continua IEFPCM [96] de água no código computacional G09 com o funcional B3LYP e a base cc-PVTZ, considerando o raio de *Van der Waals* do cobre igual a 1,2 Å, conforme sugerido na literatura [48,97]. Adicionamos dois contra-íons CI⁻ próximos ao complexo $[Cu(isaenim)]^{2+}$ para que o sistema construído tivesse carga total nula, e construímos uma célula unitária centrada no complexo de dimensões 47*x*40*x*45 Å preenchendo-a com 2076 moléculas de água. Sob condições periódicas de contorno, o tamanho da célula unitária de simulação foi escolhido de modo a assegurar que o complexo não interaja com a sua imagem nas células vizinhas. Os detalhes da construção dos arquivos inicias da simulação estão descritos no Apêndice A.

As simulações de dinâmica molecular são baseadas em algumas etapas preliminares a fim de manter o sistema em equilíbrio sob uma dada temperatura e pressão constantes. Existem diversos protocolos de equilibração utilizados na literatura, e aqui adotamos que a equilibração do sistema é composta de duas minimizações iniciais e de um aquecimento linear do sistema de 0 até temperatura T. A primeira minimização realizada tem o objetivo de relaxar as interações entre as moléculas de água e o complexo de cobre, por isso as posições atômicas do complexo $[Cu(isaenim)]^{2+}$ foram mantidas fixas e somente as posições das águas e dos contra-íons Cl⁻ foram relaxadas. A segunda minimização otimizou as posições atômicas de todo o sistema. O aquecimento do sistema foi realizado sob o *ensemble NVE*, com o volume e a energia total constantes, aumentando a temperatura T gradualmente de zero a 300 K sob intervalos de 1 K. No processo de aquecimento, as posições atômicas do complexo foram fracamente fixadas nas suas posições de equilíbrio, através de uma constante de força de 10 *kcal/mol*.Å².

Após a equilibração do sistema, a dinâmica clássica propriamente dita foi realizada retirando as restrições aplicadas às posições do complexo e mantendo a temperatura e a pressão do sistema constantes, 300 K e 1 atm, respectivamente, utilizando o termostato e o barostato de *Langevin* [98–100] (Apêndice A). Obtivemos uma trajetória de dinâmica molecular de 5 ns, registrando as posições atômicas do sistema a cada 0,5 ps.

Durante a trajetória de dinâmica clássica, o equilíbrio termodinâmico foi alcançado quando os parâmetros como energia potencial, cinética e total, temperatura, volume, densidade e desvio médio quadrático (*Root-Mean-Square-Deviation* – RMSD) atingissem

um valor médio constante, conforme mostrado na Figura 4-6, na Figura 4-7 e na Figura 4-8. O RMSD mede a diferença entre as posições atômicas iniciais do complexo $[Cu(isaenim)]^{2+}$ e todas as suas posições atômicas gravadas durante a trajetória da dinâmica molecular. Observamos que a média do RMSD, durante a trajetória de dinâmica molecular clássica, é 0,22±0,06 Å (Figura 4-8). Esta quantidade indica pouco deslocamento atômico em torno das posições de equilíbrio quando comparamos à distância de ligação de, por exemplo, uma molécula de H₂, que é da ordem de 1 Å.



Figura 4-6. Etapas da equilibração (a e b) e do início da dinâmica molecular clássica (c e d) do complexo $[Cu(isaenim)]^{2+}$ em solvente explícito. Energias, em kcal/mol, cinética (vermelho), potencial (verde) e total (azul); e Temperatura em K (magenta).



Figura 4-7. Etapas da equilibração (a e b) e do início da dinâmica molecular clássica (c e d) do complexo $[Cu(isaenim)]^{2+}$ em solvente explícito. Volume em Å³ (ciano), e Pressão em atm (marrom).



Figura 4-8. RMSD (Å) das posições atômicas do complexo [Cu(isaenim)]²⁺ durante a trajetória de dinâmica molecular clássica em solvente explícito.

Os valores das distâncias médias Cu-L e os seus desvios padrões durante a trajetória de dinâmica molecular clássica são mostrados na Tabela 4-11.

Tabela 4-11. Distâncias (Å) médias Cu-L e seus desvios padrões durante a trajetória de dinâmica molecular clássica do [Cu(isaenim)]²⁺ em solvente explícito de moléculas de água. As designações dos átomos são as indicadas na Figura 4-5b.

[Cu(isaenim)] ²⁺	d(Cu-NP)	d(Cu-N1)	d(Cu-N2)	d(Cu-O)
Média	2,064	1,974	1,974	2,156
Desvio padrão	0,072	0,060	0,060	0,073

Os valores das distâncias Cu-L obtidos através dos cálculos quânticos no vácuo, apresentados na Tabela 4-10, e da dinâmica molecular clássica em solvente explícito indicada na Tabela 4-11, podem ser agora comparados: o nitrogênio da piridina NP e o oxigênio O permaneceram afastados do cobre em até 0,1 Å durante a trajetória de dinâmica molecular clássica. Isto é devido à interação entre o complexo e as moléculas do solvente durante a simulação clássica, que leva à distâncias médias Cu-L diferentes dos valores esperados na fase gasosa.

As moléculas de água durante a trajetória de dinâmica molecular clássica se organizaram em camadas de solvatação ao redor do complexo $[Cu(isaenim)]^{2+}$, como é possível ver pela função de distribuição radial g(r) do par Cu-O^{água}, mostrada na Figura 4-9a. Em particular, notamos que os oxigênios das moléculas de água permaneceram mais tempo, durante a trajetória, a uma distância de 2,45 ± 0,5 Å do cobre. A integral da g(r) (Figura 4-9b) mostra que existem em média dois oxigênios, ou duas moléculas de água, coordenados ao metal na primeira camada de solvatação.

86



Figura 4-9. Camadas de solvatação do Cu durante a trajetória de dinâmica molecular clássica do complexo $[Cu(isaenim)]^{2+}$: a) função de distribuição radial g(r) e b) integral de g(r) do par Cu-O^{água}.

4.2.1.2.2. Dinâmica Molecular Híbrida QMMM para o complexo [Cu(isaenim)]²⁺ em solvente explícito

Para realizarmos uma dinâmica molecular híbrida de *Car-Parrinello* (CP/MM) do complexo $[Cu(isaenim)]^{2+}$ é necessário que o sistema esteja equilibrado por meio de uma simulação prévia de dinâmica molecular clássica. Escolhemos a última estrutura obtida na trajetória da dinâmica clássica *NPT* como ponto de partida para iniciarmos a dinâmica quântica de *Car-Parrinello*. No entanto, precisamos executar a "reimagem" das posições atômicas do sistema sobre a célula unitária inicial, devido ao fato de que o *ensemble NPT* da trajetória clássica não considera o volume da célula unitária constante. Os detalhes da "reimagem" do sistema e da construção dos arquivos iniciais para a simulação de dinâmica molecular QMMM são apresentados no Apêndice B. A simulação da parte MM sobre as moléculas do solvente e os contra-íons empregou o campo de força GROMOS [52], cuja a interface do QMMM utiliza. A parte QM (somente o complexo [Cu(isaenim)]²⁺) foi desenvolvida sob o funcional de troca e correlação BLYP com bases de onda planas sob 70 Ry de corte e massa eletrônica fictícia igual a 600 a.u., na aproximação LSD para representar o estado de oxidação do Cu²⁺ na configuração de spin dubleto. Utilizamos o

pseudo potencial Gauss-Hermite para o cobre, e o Kleinman-Bylander [101] para os demais átomos.

Antes de começarmos a dinâmica propriamente dita é necessário equilibrar o sistema para o nível híbrido clássico-quântico. A equilibração em conjunto com a diretiva QMMM é feita realizando um *annealing* simultâneo do nosso sistema sob um *ensemble NVE*. O *annealing* do sistema é feito removendo gradualmente a energia cinética por meio da multiplicação das velocidades por uma fator constante. Como resultado, a temperatura do sistema decaiu de 300 a zero K, conforme mostrado na Figura 4-10. A energia total clássica (ECLASSIC), a energia de Kohn-Sham (EKS), equivalente à energia potencial em uma dinâmica clássica, e a energia total do Hamiltoniano de *Car-Parrinello* (EHAM) durante o *annealing* são mostradas na Figura 4-11. O procedimento de equilibração ambienta o sistema obtido com parâmetros clássicos ao nível quântico ou CP/MM.



Figura 4-10. Temperatura (K) durante *annealing* do complexo [Cu(isaenim)]²⁺ sob solvatação explícita utilizando a aproximação QMMM.



Figura 4-11. *Annealing* do complexo [Cu(isaenim)]²⁺ sob solvatação explícita utilizando a aproximação QMMM: a) Energia (kcal/mol) clássica total (ECLASSIC), potencial clássica (EKS) e do hamiltoniano de Car-Parrinello (EHAM); b) Detalhe mostra o decaimento suave das energias ECLASSIC, EKS e EHAM no final do *annealing*.

Após o *annealing*, realizamos novamente o aquecimento linear do sistema até a temperatura de 300 K, conforme apresentado na Figura 4-12.



Figura 4-12. Energia (kcal/mol) clássica total (ECLASSIC), potencial clássica (EKS) e do hamiltoniano de *Car-Parrinello* (EHAM) durante o aquecimento de 0 a 300 K do complexo [Cu(isaenim)]²⁺ sob solvatação explícita utilizando a aproximação QMMM.

Notamos que o comportamento da temperatura e das energias EKS, ECLASSIC e EHAM do sistema durante o procedimento de *annealing* e de aquecimento alcançaram valores constantes, indicando o equilíbrio termodinâmico. Finalmente, uma dinâmica molecular de *Car-Parrinello*[43] híbrida QMMM foi realizada durante 10 ps no *ensemble*

NVT mantendo a temperatura de 300K, cujo comportamento das energias EKS, ECLASSIC e EHAM, é mostrado na Figura 4-13.



Figura 4-13. Energia (kcal/mol) clássica total (ECLASSIC), potencial clássica (EKS) e do hamiltoniano de Car-Parrinello (EHAM) do complexo [Cu(isaenim)]²⁺ sob solvatação explícita durante a dinâmica molecular CP/MM.

O RMSD para o complexo $[Cu(isaenim)]^{2+}$ durante a trajetória de dinâmica molecular CP/MM mostrou que o sistema é bastante estável, conforme pode ser observado na Figura 4-14, sendo o valor médio $0,37\pm0,11$ Å, considerado muito pequeno.



Figura 4-14. RMSD (Å) das posições atômicas do complexo [Cu(isaenim)]²⁺ durante a trajetória de dinâmica molecular CP/MM em solvente explícito.

Os valores das distâncias médias Cu-L e os seus desvios padrões durante a dinâmica molecular CP/MM são mostrados na Tabela 4-12.

Tabela 4-12. Distâncias (Å) médias Cu-L e seus desvios padrões da trajetória de dinâmica molecular CP/MM do $[Cu(isaenim)]^{2+}$ em solvente explícito. As designações dos átomos são as indicadas na Figura 4-5b.

[Cu(isaenim)] ²⁺	d(Cu-NP)	d(Cu-N1)	d(Cu-N2)	d(Cu-O)
Média	2,002	1,969	1,967	2,140
Desvio padrão	0,063	0,051	0,055	0,098

Comparando as distâncias Cu-L obtidas na dinâmica CP/MM e os resultados no vácuo (Tabela 4-10 e Tabela 4-12) vemos que a abordagem QMMM, segundo os seus desvios padrões, reproduziu as distâncias de coordenação do cobre obtidas com o código computacional G09 sob os funcionais BP86 e PBE0. Em especial, a dinâmica CP/MM diminuiu em 0,06 Å a distância média Cu-NP, quando comparada a trajetória clássica (Tabela 4-11).

Observamos que nas dinâmicas moleculares clássica e CP/MM, as distâncias médias Cu-N1 e Cu-N2, segundo os seus desvios padrões, são iguais aos valores encontrados no cálculo realizado no vácuo (Tabela 4-10). Entretanto, as distâncias médias Cu-O nas trajetórias clássica e CP/MM são 0,1 Å maiores que o valor obtido no cálculo realizado no vácuo (Tabela 4-10). Isto é devido à interação entre este oxigênio e as moléculas de águas do solvente.

A função de distribuição radial g(r) do par Cu-O^{água} da trajetória de dinâmica molecular CP/MM, exibida na Figura 4-15a, mostram que, na primeira camada de solvatação, os oxigênios das águas permaneceram a uma distância média de 2,14 \pm 0,3 Å ao cobre. Além disso, notamos que duas águas permaneceram coordenadas ao metal conforme indicado na Figura 4-15b. Portanto, vemos que o uso da abordagem QMMM diminuiu a distância média do par Cu-O^{água} em até 0,3 Å, quando comparada aos resultados da trajetória clássica (Figura 4-9).



Figura 4-15. Camadas de solvatação do Cu durante a trajetória de dinâmica molecular CP/MM do complexo $[Cu(isaenim)]^{2+}$: a) função de distribuição radial g(r) e b) integral de g(r) do par Cu-O^{água}.

4.2.1.2.3. Análise estrutural do equilíbrio Ceto-Enol do complexo [Cu(isaenim)]^{2+/+}

O equilíbrio ceto-enol para o complexo $[Cu(isaenim)]^{2+/+}$, mostrado na Figura 1-2, ocorre devido à mudança do pH em solução, que, por sua vez, é observado experimentalmente por meio do valor do acoplamento hiperfino obtido no espectro EPR [8]. Investigaremos a influência do solvente sobre o tensor acoplamento hiperfino \vec{A} do cobre quando coordenado axialmente à duas moléculas de água. Para isso escolhemos uma estrutura representativa da forma ceto e duas moléculas de água dentro da primeira esfera de coordenação do cobre, a partir da informação da função de distribuição radial g(r) do par Cu-O^{água} (Figura 4-9 e Figura 4-15), obtidas para as trajetórias clássica e CP/MM do complexo [Cu(isaenim)]²⁺. A Figura 4-16 exibe as geometrias escolhidas e indica as distâncias médias Cu-O^{água} durante as trajetórias clássica e CP/MM para o complexo [Cu(isaenim)]²⁺.



Figura 4-16. Estruturas representativas do complexo [Cu(isaenim)]²⁺ e das duas moléculas de água axiais coordenadas ao cobre durante as trajetórias clássica e CP/MM. As distâncias Cu-O^{água} são indicadas em Å. As convenções de cores dos átomos são: verde (C), branca (H), azul (N), vermelha (O) e dourada (Cu).

Conforme apresentado na Figura 1-2, na forma ceto, o complexo $[Cu(isaenim)]^{2+}$ tem carga total +2, enquanto que na forma enol ($[Cu(isaenim)]^+$) carga +1. Obtivemos a forma enol, complexo $[Cu(isaenim)]^+$, retirando um hidrogênio ligado ao nitrogênio da isatina do complexo $[Cu(isaenim)]^{2+}$, na forma ceto otimizada no vácuo sob o funcional PBE0 e base QZVP. Em seguida, o complexo com carga total +1 foi novamente otimizado sob mesmo funcional e base, cujas distâncias Cu-L são apresentadas na Tabela 4-13.

Tabela 4-13. Distâncias (Å) Cu-L para o complexo [Cu(isaenim)]⁺ na forma enol obtidas no vácuo utilizando o código computacional G09. As designações dos átomos são as indicadas na Figura 4-5b.

Funcional	Base	d(Cu-NP)	d(Cu-N1)	d(Cu-N2)	d(Cu-O)
PBEO	QZVP	1,985	1,982	1,947	1,911

Comparando as distâncias Cu-L dos complexos [Cu(isaenim)]²⁺ e [Cu(isaenim)]⁺, (Tabela 4-10 e Tabela 4-13), notamos que as distâncias Cu-NP e Cu-N1 são 0,02 Å maiores, e as distâncias Cu-N2 e Cu-O são 0,02 e 0,1 Å menores, na forma enol devido à ausência do hidrogênio no grupo isatina.

Admitindo que a variação do pH da solução não modifica a distância média Cu-O^{água}, construímos o sistema [Cu(isaenim)]⁺ sob o efeito de solvente, a partir da geometria do complexo otimizada com o funcional PBE0 e a base QZVP no vácuo, colocando, então, duas moléculas de água em posições axiais ao metal, utilizando as distâncias encontradas, para a forma ceto, nas trajetórias clássica e CP/MM.

4.2.2. Análise do Acoplamento Hiperfino

De maneira a relacionar a coordenação do cobre com a interação hiperfina no metal, investigamos as geometrias do complexo [Cu(isaenim)]^{2+/+} encontradas durante os estudos estruturais (seção 4.2.1), por meio do cálculo do tensor de acoplamento hiperfino \vec{A} , comparando às medidas de EPR da literatura [8]. O tensor \vec{A} pode ser expresso por duas componentes $A_{||} e A_{\perp}$ descritas anteriormente na seção 3.2. Numa primeira etapa, com o objetivo de escolher o melhor funcional e base para obter o acoplamento hiperfino do cobre, dentre as indicações da literatura [93,94,102], estudamos separadamente o complexo [CuCl₄]²⁻, por meio de cálculos dentro do esquema KS comparando-os com resultados experimentais [93,103,104].

Na seção 4.2.2.1 a seguir, estudamos o complexo $[CuCl_4]^{2-}$ sob o esquema de KS para a DFT para calcular o \vec{A} no metal. Na seção 4.2.2.2, utilizando o funcional da DFT e a base indicados na seção 4.2.2.1, calculamos \vec{A} para cada uma das geometrias nas formas ceto e enol do complexo $[Cu(isaenim)]^{2+/+}$. Investigamos também o efeito da coordenação do cobre com duas moléculas de água axiais sobre o valor do tensor \vec{A} calculado.

4.2.2.1. Acoplamento Hiperfino do [CuCl₄]²⁻ 4.2.2.1.1. Dados experimentais da literatura

Harlow R. L. *et al.* [105] cristalizaram o complexo $[CuCl_4]^{2-}$ sob diferentes condições com o intuito de estudar a coordenação do cobre, obtendo as geometrias quadrado planar D_{4h} e tetraédrica D_{2d} . O espectro de EPR experimental descrito na literatura [93] para o complexo $[CuCl_4]^{2-}$ na simetria D_{4h} , na Figura 4-17, mostra a componente $A_{||}$ do tensor de acoplamento hiperfino relacionada com a distância entre os picos indicados, que quantificam a interação entre o spin nuclear I e o spin total eletrônico S do cobre.



Figura 4-17. Espectro do sinal de EPR para o complexo [CuCl₄]²⁻ retirada da literatura [93].

O acoplamento hiperfino no sítio do metal do complexo $[CuCl_4]^{2-}$ obtido por métodos espectroscópicos por C. Chow *et al.* [103] são apresentados na Tabela 4-14; também são apresentados os dados experimentais obtidos por S. V. Didziulis *et al.* [104] para a densidade de spin do elétron desemparelhado, que se delocaliza no nível 3*d*, orbital $d_{x^2-y^2}$ do cobre, e nos orbitais $p\sigma$ dos quatro sítios dos cloros, mostrando uma forte ligação Cu-Cl.

Tabela 4-14. O acoplamento hiperfino (MHz) e as densidades de spin no cobre e nos cloros obtidas, para o complexo [CuCl₄]²⁻, por métodos espectroscópicos [103,104].

$\left[\operatorname{CuCl}_{4}\right]^{2}$	$A_{ }$	A_{\perp}	Densidade de spin no orbital $d_{x^2-y^2}$ do Cu	Densidade de spin no orbitais $p\sigma$ dos 4 cloros
Experimental	-491 [103]	-103 [103]	67% [104]	33% [104]

4.2.2.1.2. Cálculo do Acoplamento Hiperfino no Cu para o complexo [CuCl₄]²⁻ na simetria D_{4h}

O cálculo do acoplamento hiperfino no Cu para o complexo $[CuCl_4]^{2^-}$ foi baseado na simetria D_{4h} encontrada da estrutura cristalográfica $((C_6H_5)CH_2CH_2NH(CH_3)H)_2[CuCl_4]^{2^-}$ [105], encontrada no banco de dados CCDC [92]. Aproximamos todas as distâncias Cu-Cl (2,248 e 2,281 Å) para a média das distâncias experimentais encontradas no cristal, a saber 2,264 Å, conforme sugerido na literatura [102] utilizada como referência para este estudo. O código computacional ORCA [79] foi utilizado para calcular o tensor \vec{A} que, como descrito anteriormente (seção 3.2), possui três contribuições que compõe $A_{||} e A_{\perp}$: contato de Fermi – ACF (equação (108)), dipolar -ADIP (equação (109)) e spin-órbita – ASO (equação (110)).

No caso dos metais de transição, as inclusões da correção relativística e da contribuição *SO* são fundamentais para a descrição correta do tensor hiperfino \vec{A} [106,107]. Além disso, F. Neese desenvolveu a função de base CP(PPP) [108], argumentando que ela pode ser utilizada para melhorar a descrição da densidade de spin eletrônico no orbital $d_{x^2-y^2}$ do cobre. Por este motivo, realizamos testes calculando as contribuições para o tensor \vec{A} utilizando esta base, além da TZVP, e diferentes funcionais.

A Tabela 4-15 apresenta as contribuições do tensor hiperfino \vec{A} e a densidade de spin no cobre calculados para o complexo $[CuCl_4]^{2^-}$. Nos cálculos realizados com o código computacional ORCA, o valor do fator giromagnético g_N para o isótopo 63 Cu, com I = 3/2, foi igual a 1,484 [109,110]. Observamos aqui a variação das contribuições ACF, ADIP e ASO com a inclusão da correção relativística ZORA utilizando duas funções de base bem flexíveis nos orbitais de caroço: TZVP [81] e CP(PPP) [108]. A análise populacional de Mulliken foi utilizada para obtermos a distribuição da densidade de spin eletrônica no complexo [CuCl_4]²⁻ sob os funcionais híbridos B3LYP, PBE0 e BHANDHLYP, respectivamente, com 20, 25 e 50% de contribuição de troca HF, e o funcional puro BP86.

	FUNCIONAL	BASE	ACF	ADIP	ASO	$A_{ }$	A_{\perp}	Densidade de spin no orbital $d_{x^2-y^2}$ do Cu(%)
	BP86	TZVP	-226,65	-356,25	172,98	-409,92	-0,96	46
		CP(PPP)	-238 <i>,</i> 09	-368,25	182,21	-424,14	-2 <i>,</i> 86	49
	B3LYP	TZVP	-291,48	-423,70	245,61	-469,58	-10,80	54
Sem		CP(PPP)	-301 <i>,</i> 98	-434,19	250,14	-486 <i>,</i> 04	-14,03	58
ZORA	PBE0	TZVP	-332 <i>,</i> 80	-451,50	287 <i>,</i> 09	-497,22	-26,14	59
		CP(PPP)	-342,55	-460,65	288,87	-514,33	-30,14	62
	BHANDHLYP	TZVP	-356,18	-555,70	469,89	-441,98	53,31	74
		CP(PPP)	-368,39	-557,87	441,14	-485,12	34,92	77
	BP86	TZVP	-287 <i>,</i> 76	-364,54	185,58	-466,71	-53,32	47
		CP(PPP)	-320,23	-376,09	195,86	-500,45	-76,00	51
	B3LYP	TZVP	-372,79	-434,05	264,88	-541,96	-79,90	56
Com		CP(PPP)	-408,55	-443,73	270,08	-582,20	-108,51	60
ZORA	PBEO	TZVP	-423,34	-460,96	308,67	-575,63	-104,04	61
		CP(PPP)	-461,26	-469,21	310,98	-619,49	-136,44	64
	BHANDHLYP	TZVP	-455,55	-558,91	497,60	-516,86	-34,77	76
		CP(PPP)	-498,64	-560,23	468,02	-590,85	-84,76	78
Experime	ental [103,104]					-491	-103	67

Tabela 4-15. As contribuições do tensor hiperfino \overleftrightarrow{A} (MHz) e a densidade de spin no orbital $d_{x^2-y^2}$ do Cu para o complexo [CuCl₄]²⁻.

Como mostra a Tabela 4-15, de forma geral, o crescimento do termo de troca de HF no funcional híbrido aumentou a densidade de spin no orbital $d_{x^2-y^2}$ do cobre, diminuiu as contribuições ACF e ADIP e aumentou a ASO do tensor hiperfino \vec{A} , sendo está última a mais sensível. Como esperado, devido à inclusão da correção relativística ZORA, a descrição dos elétrons na região do núcleo representada pela contribuição AFC diminuiu consideravelmente, e devido a esta característica adotaremos daqui em diante a aproximação ZORA em todos os cálculos subsequentes do tensor hiperfino. Observamos ainda que a base CP(PPP) aumentou a densidade de spin no cobre em até 4% com relação a base TZVP. Embora, o funcional híbrido PBE0 sob a base CP(PPP) obteve a densidade de spin no cobre mais próxima ao valor experimental, quando comparamos o valor de $A_{||}$, o funcional BHANDHLYP sob a base TZVP alcançou a melhor concordância com o acoplamento hiperfino experimental. A principal razão desta concordância do acoplamento hiperfino é que a adição de 50% de troca HF aumentou consideravelmente a contribuição ASO, tornando o valor de $A_{||}$ próximo ao experimental.

Como estamos interessados em descrever a contribuição $A_{||}$, devido a sua melhor descrição experimental frente ao A_{\perp} , investigamos o funcional BHANDHLYP modificando a sua contribuição de troca HF sob a base TZVP. A Tabela 4-16 apresenta as contribuições do tensor hiperfino e a densidade de spin no cobre para o complexo [CuCl₄]²⁻ sob os funcionais B(25%)LYP, B(38%)LYP, B(45%)LYP e BHANDHLYP, cujas contribuições de troca HF são 25, 38, 45 e 50%, respectivamente.

Tabela 4-16. Influência nas contribuições do tensor do acoplamento hiperfino \overleftrightarrow{A} (MHz) e da densidade de spin no orbital $d_{x^2-y^2}$ do cobre para o complexo $[CuCl_4]^{2-}$ sob diferentes porcentagens de troca HF do funcional BHANDHLYP e base TZVP.

B(%HF)LYP	ACF	ADIP	ASO	$A_{ }$	Densidade de spin no orbital $d_{x^2-y^2}$ do Cu(%)
B(25%)LYP	-395,60	-457,58	290,12	-563,06	60
B(38%)LYP	-435,93	-514,60	384,68	-565 <i>,</i> 85	69
B(45%)LYP	-449,15	-542,09	447,67	-543,57	73
BHANDHLYP	-455,55	-558,91	497,60	-516,86	76
Experimental [103,104]				-491	67

Novamente como observado na Tabela 4-15, a Tabela 4-16 mostra que o crescimento da troca HF no funcional híbrido BHANDHLYP aumenta a contribuição ASO reproduzindo o valor de $A_{||}$ calculado, aproximando-o do experimental. Em especial, notamos que o aumento de 45 para 50% da troca HF respondeu com um acréscimo superior a 10% na contribuição ASO. Embora no funcional BHANDHLYP a densidade de spin seja mais localizada no orbital $d_{x^2-y^2}$, utilizamos este funcional porque obteve a melhor descrição da contribuição ASO, o que é importante no caso de metais de transição.

98

4.2.2.2. Acoplamento Hiperfino no Equilíbrio Ceto-Enol do complexo [Cu(isaenim)]^{2+/+}

O complexo $[Cu(isaenim)]^{2+/+}$, alvo do nosso estudo, apresenta o equilíbrio cetoenol [19] que é deslocado para a forma enol quando o pH da solução se encontra entre 7,2 e 11,0. No intervalo de pH de 5,6 e 6,2, ambas as formas ceto e enol estão presentes em solução aquosa congelada a 203 K. A caracterização espectroscópica das formas ceto e enol do complexo $[Cu(isaenim)]^{2+/+}$ foi realizada por medidas de EPR [8] e os seus respectivos valores do acoplamento hiperfino $A_{||}$ são apresentados na Tabela 4-17. Os valores do acoplamento hiperfino $A_{||}$ calculados para a partir das geometrias encontradas no vácuo e sob efeito do solvente são também apresentados na Tabela 4-17. Para a forma ceto, os modelos sob o efeito solvente foram construídos utilizando a geometria de uma estrutura representativa do complexo $[Cu(isaenim)]^{2+}$ e de duas moléculas de água dentro da primeira esfera de coordenação do metal encontrada durante as simulações de dinâmicas clássica e CP/MM, conforme descrito na seção 4.2.1.2.3. A geometria da forma enol foi obtida a partir da otimização sob o funcional PBE0 e base QZVP, e em seguida de modo a observarmos a influência do solvente, o metal desta estrutura foi coordenado á duas moléculas águas utilizando as distâncias Cu-O^{água} encontradas durante as simulações de dinâmicas clássica e CP/MM para a forma ceto. O valor de A_{||} para as formas ceto e enol no vácuo e com o cobre coordenado à duas moléculas de água foi calculado com o código computacional ORCA [79], utilizando o funcional BHANDHLYP e a base TZVP.

Complexo	Forma	A						
			com duas	com duas				
		Vácuo	H ₂ O axiais	H ₂ O axiais	Experimental [8]			
			Din. Clássica	Din. CP/MM				
$[Cu(isaenim)]^{2+}$	ceto	-703,53	-526,65	-390,89	-416,71			
$[Cu(isaenim)]^+$	enol	-728,58	-672,28	-618,19	-605,58			

Tabela 4-17. Acoplamento hiperfino $A_{||}$ (MHz) no Cu para o complexo $[Cu(isaenim)]^{2+/+}$, nas formas ceto e enol, calculado no vácuo e com duas moléculas de águas posicionadas axialmente ao metal, segundo as trajetórias clássica e CP/MM. Também são apresentados os resultados experimentais na fase aquosa encontrados na literatura [8].

Notamos que os valores dos acoplamentos hiperfinos no Cu para os complexos $[Cu(isaenim)]^{2+/+}$, nas formas ceto e enol, calculados no vácuo e nas estruturas representativas da trajetória de dinâmica clássica, não reproduziram as medidas experimentais. Por outro lado, os valores de $A_{||}$, calculados para as estruturas representativas das formas ceto e enol segundo a dinâmica molecular CP/MM, alcançaram excelente concordância com os obtidos experimentalmente.

A importância da inclusão de duas moléculas de água axiais na coordenação do cobre é verificada quando comparamos a diferença entre os valores de $A_{||}$ para as formas ceto e enol: a diferença experimental é 189 MHz, sendo que no vácuo ela diminui para 25 MHz. No entanto, a diferença do $A_{||}$ calculado para as geometrias obtidas na trajetória CP/MM, da ordem de 146 MHz, é relativamente mais próxima ao esperado experimentalmente, 189 MHz, do que as estruturas representativas durante a simulação clássica, a saber 227 MHz.

Através dos cálculos do acoplamento hiperfino no Cu observamos que o potencial que rege a interação não ligada entre o cobre e o solvente deve ser corrigido de modo a obtermos um pico na função de distribuição do par Cu-O^{água} da ordem de 2,15 Å durante a simulação de dinâmica clássica do complexo [Cu(isaenim)]^{2+/+}. Pretendemos futuramente corrigir este potencial para calcular o acoplamento hiperfino de outros complexos de cobre, estruturalmente similares, em solução aquosa.

4.3. Estudo da interação de ligantes orgânicos e do complexo [Cu(isaenim)]²⁺ no sulco menor de um oligômero de DNA

Até agora utilizando a DFT no esquema de KS e o formalismo de dinâmica molecular, estudamos a coordenação metálica no complexo $[Cu(isaenim)]^{2+}$ no vácuo e sob o efeito do solvente explícito, validando as geometrias encontradas por meio do cálculo do tensor de acoplamento hiperfino no cobre frente a medidas de EPR descritas na literatura [94]. Nesta etapa investigaremos a interação dos ligantes orgânicos e do complexo [Cu(isaenim)]²⁺ no sulco menor de um oligômero de DNA por meio da comparação com resultados da energia livre de formação destes complexos supramoleculares. Conforme apresentado na Figura 4-18a, o DNA é um polímero organizado em dupla hélice que apresenta duas cavidades: os sulcos menor e maior. O termo complexo supramolecular, nesta tese, corresponde ao sistema constituído de um ligante orgânico ou um complexo metálico ligado por interações não covalentes ao sulco menor de um oligômero de DNA. O monômero do DNA (Figura 4-18b), denominado de nucleotídeo, é constituído por um grupo fosfato, por uma pentose e por 4 bases nitrogenadas diferentes: Adenina (A), Timina (T), Citosina (C) e Guanina (G). O pareamento das bases nitrogenadas, mostrado na Figura 4-18c, se dá por ligações de hidrogênio no qual A interage com T, e G com C. Na região do sulco menor, mesmo após o pareamento, existem muitos sítios aceitadores (verde) e apenas um doador (amarelo) de hidrogênio, indicados na Figura 4-18c.



Figura 4-18. Estrutura do DNA: a) os sulcos menor e maior, b) a composição de um nucleotídeo e c) os sítios aceitadores (verde) e doadores(amarelo) de hidrogênio na região do sulco menor. As setas em azul indicam a direção da fita simples em uma sequência específica de bases nitrogenadas A, T, C e G (em azul).

Os sítios aceitadores e doadores de hidrogênio são os principais responsáveis pela ancoragem de muitos ligantes orgânicos no sulco menor do DNA. Portanto, utilizaremos estas informações na metadinâmica para realizar a dissociação do complexo supramolecular, e encontrar os estados intermediários relevantes durante o processo de desligamento. Além disso, por meio da superfície de energia livre de dissociação, estimaremos a variação de energia livre ΔG pela diferença entre os estados ligado e não ligado, comparando-a com os resultados experimentais disponíveis na literatura [8]. No caso do complexo [Cu(isaenim)]²⁺, realizaremos ainda o cálculo do tensor de acoplamento hiperfino no Cu para posições representativas de interação no sulco menor de modo a caracterizar teoricamente o estado ligado deste complexo supramolecular.

Inicialmente, na seção 4.3.1 avaliamos, por dinâmica molecular clássica, a estabilidade de um oligômero de DNA constituído de 10 pares de bases nitrogenadas sob solvatação explícita de moléculas de água. Nas seções 4.3.2 e 4.3.3, utilizando metadinâmica clássica, investigamos a interação de dois ligantes orgânicos, para os quais existem resultados experimentais na literatura [111,112], e o complexo [Cu(isaenim)]²⁺com um oligômero de DNA, de modo a obter a energia livre de dissociação destes complexos supramoleculares. Finalmente, na seção 4.3.4, realizamos o cálculo do tensor hiperfino quando o complexo [Cu(isaenim)]²⁺ está inserido no sulco menor do DNA.

4.3.1. Simulação de dinâmica molecular clássica de um oligômero de DNA em solvente explícito

Considerando que um oligômero de até 10 pares de bases é um modelo capaz de reproduzir a região do sulco menor de uma cadeia extensa de DNA em solução [113], realizamos o estudo de dinâmica molecular clássica *NPT* sob solvente explícito de moléculas de água com o objetivo de investigar os seus equilíbrios estrutural e termodinâmico. Detalhes da construção dos arquivos iniciais para a simulação de dinâmica clássica de uma cadeia de dupla hélice [ATATATATAT]₂ de DNA são apresentados no Apêndice C. A equilibração do oligômero de DNA foi realizada seguindo o protocolo de equilibração descrito na seção 2.1. Em seguida, uma dinâmica molecular clássica sob o *ensemble NPT* foi realizada mantendo a temperatura e a pressão do sistema constantes em 300 K e 1 atm. A trajetória de 10 ns da dinâmicas a cada 0,5 ps, mostrou que os parâmetros termodinâmicos alcançaram o equilíbrio termodinâmico, conforme mostrado na Figura 4-19. Na Figura 4-20 vemos que o valor médio do RMSD, igual a 3,24 ± 0,73 Å, durante a trajetória de dinâmica molecular clássica, pode ser considerado pequeno, quando comparado à grande mobilidade das bases nitrogenadas.



Figura 4-19. Etapas da equilibração (a, b, c, d) e do início da dinâmica molecular clássica (e, f, g, h) do oligômero de DNA em solvente explícito. Energias, em kcal/mol, cinética (vermelho), potencial (verde) e total (azul); Temperatura em K (magenta), Volume em Å³ (ciano), e Pressão em atm (marrom).



Figura 4-20. RMSD (Å) durante a dinâmica molecular clássica do oligômero de DNA em solvente explícito.

4.3.2. Simulação da dissociação de ligantes orgânicos no sulco menor de um oligômero de DNA

Os ligantes DST e FUR, representados na Figura 4-21, caracterizam-se pela preferência de interação com sítios ricos em oxigênios e nitrogênios nas bases nitrogenadas, como a Adenina e a Timina [114]. Além disso, a DST possui atividade antibiótica, antiviral e antiprotozoária, enquanto que a FUR tem sido estudada no tratamento de malária, câncer e tripanossomíase [111].



Figura 4-21. Representação dos ligantes Distamicina A (DST) e Furamidina (FUR).

O objetivo do estudo apresentado nesta seção foi o de adquirir experiência com a técnica de metadinâmica, reproduzindo os resultados da literatura [115] referentes à dissociação do ligante orgânico Distamicina A (DST) do sulco menor de um oligômero de DNA, e obtendo, dessa forma, a superfície de energia livre que descreve este processo. Assim como indicado na referência [115], substituímos o oligômero [GGCCAATTGG]₂, associado à molécula DST e contido na estrutura tridimensional sob o código 1JTL [116] no banco de dados PBD, pela sequência de pares de bases nitrogenadas [GCGATTAGCG]₂, a fim de construirmos o complexo supramolecular DST-[GCGATTAGCG]₂ (DST-DNA), cuja energia livre de dissociação é conhecida experimentalmente [112].

Aplicamos o protocolo de dissociação desenvolvido para o sistema DST-DNA para o estudo da interação da Furamidina (FUR), um ligante similar à DST, com o sulco menor de um oligômero de DNA. Com base na estrutura tridimensional do complexo supramolecular FUR-[GCGATTAGCG]₂ (FUR-DNA), disponível no PDB sob o código 227D [111], investigamos o desligamento da FUR, cuja energia livre de dissociação experimental é conhecida [111].

Realizamos a simulação de dinâmica molecular clássica dos complexos supramoleculares DST-DNA e FUR-DNA, representados na Figura 4-22, com carga total nula e sob efeito de solvente explícito. Para isso, construímos células unitárias de tamanhos $78x75x84 \text{ Å}^3$ e $89x89x102 \text{ Å}^3$, e adicionamos 18 e 20 íons de Na⁺ próximos aos complexos supramoleculares DST-DNA e FUR-DNA, respectivamente, preenchendo-as com moléculas de água do modelo TIP3P [117]. O tamanho da célula unitária utilizada na simulação assegura que, segundo as condições periódicas de contorno, o ligante orgânico não interaja com a sua imagem reproduzida nas células vizinhas, mesmo que não ligado ao sulco menor do oligômero de DNA. Detalhes da construção dos arquivos iniciais relacionados à simulação de dinâmica molecular clássica dos complexos supramoleculares DST-DNA e FUR-DNA e FUR-DNA e FUR-DNA e SUCO menor do supramoleculares de dinâmica molecular clássica dos complexos supramoleculares DST-DNA e FUR-DNA estão disponíveis no Apêndice D.



Figura 4-22. Representação das estruturas tridimensionais dos complexos supramoleculares: a) DST-[GCGATTAGCG]₂ e b) FUR-[GCGATTAGCG]₂.

4.3.2.1. Simulações de dinâmica molecular clássica dos complexos supramoleculares DST-DNA e FUR-DNA

Após a equilibração, utilizando o protocolo descrito nas seções 2.1 e 4.3.1, obtivemos para cada um dos complexos supramoleculares uma trajetória de 6 ns de dinâmica molecular clássica sob o *ensemble NPT*, mantendo constantes a pressão em 1 atm e a temperatura em 300 K. Para o complexo DST-DNA, os resultados apresentados na Figura 4-23 e na Figura 4-24 mostram que tantos os parâmetros estruturais como os termodinâmicos alcançaram o equilíbrio. Em particular, na Figura 4-24, observamos que os valores médios do RMSD, durante a trajetória de dinâmica molecular clássica, foram 1,60 \pm 0,20 Å para o DNA, e 1,16 \pm 0,19 Å para a DST.


Figura 4-23. Parâmetros termodinâmicos durante a dinâmica molecular clássica do complexo supramolecular DST-DNA em solvente explícito: a) Energias (kcal/mol) cinética em vermelho, potencial em verde e total em azul; b) temperatura (K) em magenta, c) Volume (Å³) em ciano e d) Pressão (atm) em marrom.



Figura 4-24. RMSD (Å) do DNA (preto) e da Distamicina (cinza) durante a dinâmica molecular clássica do complexo supramolecular DST-DNA em solvente explícito.

As propriedades termodinâmicas do complexo FUR-DNA observadas durante a dinâmica molecular clássica (Figura 4-25) indicam que o sistema alcançou o equilíbrio. Além disso, na Figura 4-26, podemos notar que os valores médios do RMSD são $2,60\pm0,41$ Å para o DNA, e $2,98\pm0,59$ Å para a FUR. Observamos que o valor médio do RMSD para a FUR é mais que o dobro do obtido para a DST (Figura 4-24), devido ao número de sítios doadores de hidrogênio da Furamidina ser a metade da Distamicina. Uma vez que, que o sulco menor deste oligômero de DNA é considerada uma cavidade majoritariamente composta de sítios aceitadores, conforme apresentado na Figura 4-18c, notamos que o RMSD é maior para a FUR.



Figura 4-25. Parâmetros termodinâmicos durante a dinâmica molecular clássica do complexo supramolecular FUR-DNA em solvente explícito: a) Energias (kcal/mol) cinética em vermelho, potencial em verde e total em azul; b) temperatura (K) em magenta, c) Volume (Å³) em ciano e d) Pressão (atm) em marrom.



Figura 4-26. RMSD (Å) do DNA (preto) e da Furamidina (cinza) durante a dinâmica molecular clássica do complexo supramolecular FUR-DNA em solvente explícito.

Durante a simulação de dinâmica molecular clássica do DST-DNA e do FUR-DNA, monitoramos o comportamento de duas variáveis coletivas [65], escolhidas de maneira a representar o processo de dissociação: a) a distância (d_{CM}) entre os centros de massa da sequência [ATTA]₂ e do ligante (DST ou FUR), e b) o número de ligações de hidrogênio (n_{HB}) formadas entre o DNA e o ligante. A variável coletiva n_{HB} é descrita matematicamente pela equação

$$n_{HB} = \sum_{ij} \frac{1 - (r_{ij}/r_0)^a}{1 - (r_{ij}/r_0)^b},$$
(114)

onde a = 8, b = 12 e $r_0 = 2,5$ Å. Os r_{ij} são as distâncias monitoradas durante a trajetória clássica entre conjuntos de átomos de hidrogênio, dos ligantes orgânicos DST e FUR, e de nitrogênios e/ou oxigênios do DNA previamente selecionados como sítios doadores e aceitadores de hidrogênio, respectivamente.

Conforme podemos observar na Figura 4-27 e na Figura 4-28, o comportamento das variáveis coletivas d_{CM} e n_{HB} mostrou que o centro de massa dos ligantes DST e FUR

permaneceram distantes em média $4,05\pm0,13$ Å e a $7,13\pm0,30$ Å da sequência [ATTA]₂, e ainda realizaram em média $5,6\pm0,5$ e $4,1\pm0,7$ ligações de hidrogênio, durante a trajetória de 6 ns de dinâmica molecular clássica.



Figura 4-27. Evolução das variáveis coletivas durante a dinâmica molecular clássica do complexo supramolecular DST-DNA: a) distância (Å) do centro de massa d_{CM} e b) número de ligações de hidrogênio n_{HB} entre a DST e o DNA.



Figura 4-28. Evolução das variáveis coletivas durante a dinâmica molecular clássica do complexo supramolecular FUR-DNA: a) distância (Å) do centro de massa d_{CM} e b) número de ligações de hidrogênio n_{HB} entre a FUR e o DNA.

As ocupações dos sítios doadores e aceitadores de hidrogênio obtidas pelo programa VMD [118] durante a dinâmica molecular clássica dos complexos supramoleculares DST-DNA e FUR-DNA são mostradas na Tabela 4-18 e na Tabela 4-19, respectivamente. Os critérios adotados para a ocupação foram: distâncias entre os sítios doadores e aceitadores menores que 3,5 Å e ângulos de até 35°. O código utilizado na Tabela 4-18 e na Tabela 4-19 é descrito por uma letra que representa o nome das base nitrogenadas A, C, G e T nos sítios aceitador ou doador, e um número que indica a localização destas no oligômero de DNA, conforme mostrado na Figura 4-18c. As bases nitrogenadas que mais realizaram ligações de hidrogênio durante a dinâmica molecular do complexo supramolecular DST-DNA foram a Timina e a Adenina como sítios aceitadores, e a Guanina como sítio doador. Durante a simulação do complexo supramolecular FUR-DNA, as ligações de hidrogênio aconteceram majoritariamente entre as bases Citosina e Timina como sítios aceitadores, e FUR como doador.

Doador	Aceitador	Ocupação
DST	T-15	80,56%
G-4	DST	58,44%
DST	A-5	51,95%
DST	T-6	14,28%
DST	A-16	12,81%
DST	G-9	5,23%
G-9	DST	3,58%
DST	T-7	1,87%
DST	T-18	1,72%
DST	C-10	1,25%

Tabela 4-18. Ocupações dos sítios doadores e aceitadores de ligação de hidrogênio durante a dinâmica molecular clássica do complexo supramolecular DST-DNA. Notação segundo a Figura 4-18c.

Tabela 4-19. Ocupações dos sítios doadores e aceitadores de ligação de hidrogênio durante a dinâmica molecular clássica do complexo supramolecular FUR-DNA. Notação segundo a Figura 4-18c.

Doador	Aceitador	Ocupação
FUR	C-10	60,71%
FUR	T-20	38,21%
FUR	T-8	29,34%
FUR	A-19	1,80%
FUR	T-21	1,55%

Os átomos nitrogênio (em azul) e oxigênio (em vermelho) dos principais sítios doadores e aceitadores responsáveis pelas ligações de hidrogênio durante a dinâmica

molecular clássica são indicados na Figura 4-29 para o complexo supramolecular DST-DNA, e na Figura 4-30 para o FUR-DNA.



Figura 4-29. Átomos dos sítios doadores e aceitadores responsáveis pelas ligações de hidrogênio do complexo supramolecular DST-DNA durante a dinâmica molecular clássica. As convenções de cores dos átomos são: verde (C), branca (H), azul (N) e vermelha (O).



Figura 4-30. Átomos dos sítios aceitadores responsáveis pelas ligações de hidrogênio do complexo supramolecular FUR-DNA durante a dinâmica molecular clássica. As convenções de cores dos átomos são: verde (C), branca (H), azul (N) e vermelha (O).

Segundo a referência [115], utilizamos o último nanossegundo da trajetória para selecionar a estrutura com menor RMSD em relação à estrutura média deste intervalo, a fim de iniciar os estudos de metadinâmica. Além disso, os átomos de nitrogênio e oxigênio nos sítios aceitadores e doadores do oligômero de DNA indicados na Figura 4-29 e na Figura 4-30 foram selecionados para a etapa de dissociação dos complexos supramoleculares DST-DNA e FUR-DNA.

4.3.2.2. Dissociações dos complexos supramoleculares DST-DNA e FUR-DNA

As dissociações dos ligantes DST e FUR do sulco menor de um oligômero de DNA foram investigadas por metadinâmica, utilizando o código PLUMED implementado no pacote computacional NAMD. Sob o *ensemble NPT*, utilizamos duas variáveis coletivas $(d_{CM} e n_{HB})$ para representar de maneira reduzida a superfície de energia livre de

dissociação dos complexos supramoleculares DST-DNA e FUR-DNA. A metadinâmica usa o depósito periódico de gaussianas de energia por meio de um potencial histórico dependente V_G , descrito na equação (25), que desencoraja o sistema a visitar conformações já amostradas durante a trajetória. Esse potencial $V_G(s(x), t)$ é definido pela altura w, pela largura δs e por s(x) que representa as funções definidas das variáveis coletivas. Conforme sugerido na literatura [115], definimos a altura das gaussianas w igual em 0,072 *kcal/mol* e um intervalo de tempo entre duas gaussianas como $t_G = 0,5 ps$. Adotamos também os valores das larguras das gaussianas $\delta s_{d_{CM}} e \delta s_{n_{HB}}$ iguais a 1/3 da variação de d_{CM} e de n_{HB} durante a trajetória de dinâmica molecular clássica que, segundo a Figura 4-27 e a Figura 4-28, nos leva aos valores $\delta s_{d_{CM}} = 0,5$ Å e $\delta s_{n_{HB}} = 2$ para ambos os complexos supramoleculares DST-DNA e FUR-DNA. Considerando uma trajetória longa o suficiente, a superfície de energia livre foi construída somando-se as gaussianas de energia adicionadas ao longo da trajetória.

A Figura 4-31 e a Figura 4-32 mostram as superfícies de energia livre em duas dimensões dos complexos supramoleculares DST-DNA e FUR-DNA, respectivamente. Na Figura 4-31, os pontos de 1 a 7 da superfície de energia livre do complexo DST-DNA apresentam as conformações representativas durante o processo de dissociação, sendo o ponto 7 o estado não ligado entre a DST e o DNA. Portanto, na Figura 4-31, os pontos de 1 a 7 representam os estados intermediários da dissociação do complexo DST-DNA.



Figura 4-31. Superfície de Energia Livre (kcal/mol) da dissociação do complexo supramolecular DST-DNA. As estruturas 1 a 7 representam o progresso da dissociação.

Na Figura 4-32 é apresentado a dissociação do complexo supramolecular FUR-DNA descrita pela superfície de energia livre, no qual setas indicam as estruturas intermediárias encontradas durante o desligamento de FUR. Os pontos 1 a 5 representam os estados ligados, e o ponto 6 indica o estado não ligado do complexo FUR-DNA, nessa ordem. O ponto 6 é um estado de ligação intermediária onde ocorre o último contato entre a FUR e o DNA.



Figura 4-32. Superfície de Energia Livre (kcal/mol) da dissociação do complexo supramolecular FUR-DNA. As estruturas 1 a 6 representam o progresso da dissociação.

Observamos uma excelente concordância entre os módulos das variações das energias livres ΔG teóricas estimadas, pela diferença de energia livre entre os estados ligado e não ligado de menor energia para os complexos supramoleculares DST-DNA (pontos 1 e 7) na Figura 4-31, e FUR-DNA (pontos 1 e 6) na Figura 4-32, e dos seus respectivos valores experimentais, conforme mostrado na Tabela 4-20. Comparamos o módulo de ΔG de dissociação com o de sua formação, devido a única diferença entre estas grandezas ser o seu sinal.

Tabela 4-20. Energia livre (kcal/mol) teórica e experimental de dissociação dos complexos supramoleculares DST-DNA e FUR-DNA.

Complexo ΔG teórico supramolecular		$\Delta {m G}$ experimental	
DST-DNA	18	16,6 [112]	
FUR-DNA	10	9,4 [111]	

O processo de dissociação dos ligantes DST e FUR pode ser acompanhado pelas interações eletrostática e de *Van der Waals (VdW)* entre os ligantes DST/ FUR e os quatros pares de bases ATTA do oligômero de DNA. A Tabela 4-21 e a Tabela 4-22 mostram as energias de interação eletrostática e de *VdW* para cada uma das estruturas do processo de dissociação dos complexos supramoleculares DST-DNA e FUR-DNA, indicadas respectivamente na Figura 4-31 e na Figura 4-32.

Estrutura	Interação Eletrostática	Interação de VdW	Total
1	-23,06	-65,30	-88,36
2	-22,78	-45,97	-68,75
3	-53,38	-65,14	-118,52
4	-49,67	-51,75	-101,42
5	-18,21	-43,45	-61,66
6	-11,65	-22,71	-34,36
7	-11,08	-9,42	-20,50

Tabela 4-21. Energias (kcal/mol) das interações eletrostática e de *VdW* do complexo supramolecular DST-DNA durante a dissociação.

Tabela 4-22. Energias (kcal/mol) das interações eletrostática e de *VdW* do complexo supramolecular FUR-DNA durante a dissociação.

Estrutura	Interação Eletrostática	Interação de VdW	Total
1	-170,27	-37,28	-207,55
2	-131,35	-37,39	-168,73
3	-124,71	-31,03	-155,74
4	-120,46	-20,31	-140,78
5	-67,54	-4,30	-71,84
6	-77,49	1,56	-75,93

O comportamento das energias de interação eletrostática e de VdW mostram que os ligantes DST e FUR se desconectaram do sulco menor do DNA, quando elas diminuem pela metade após o desligamento, com exceção da DST, cuja energia eletrostática nas estruturas 3 e 4 dobraram em comparação à posição 1.

4.3.3. Simulação da Dissociação do complexo supramolecular [Cu(isaenim)]²⁺-DNA

Utilizando o protocolo desenvolvido anteriormente para a dissociação dos complexos supramoleculares DST-DNA e FUR-DNA, investigamos as primeiras etapas do mecanismo de dissociação do complexo $[Cu(isaenim)]^{2+}$ do sulco menor do DNA. A partir da superfície de energia livre obtida pela metadinâmica, estimamos a energia livre de dissociação ΔG do complexo supramolecular $[Cu(isaenim)]^{2+}$ - $[GCGATTAGCG]_2$, representado por CIE-DNA, e finalmente comparamos com o ΔG de formação [8] obtido pelo grupo da Profa. Ana Maria da Costa Ferreira (IQUSP). O grupo experimental estimou essa energia livre de formação do complexo supramolecular CIE-DNA a partir da competição entre o complexo de cobre e o com Brometo de etídio pelo sulco menor do DNA plasmidial [8], no qual as informações sobre a sequência de pares de bases nitrogenadas que estavam ligadas ao $[Cu(isaenim)]^{2+}$ são desconhecidas. Portanto, utilizaremos o módulo do valor de ΔG experimental como balizamento dos nossos resultados teóricos.

Entretanto, um dos grandes desafios desta simulação é que não temos informações experimentais sobre a estrutura tridimensional do complexo supramolecular CIE-DNA, assim como da preferência de ligação da sequência alvo de bases nitrogenadas do complexo [Cu(isaenim)]²⁺. Neste caso, utilizando o oligômero [GCGATTAGCG]₂, consideramos a sequência de bases nitrogenadas GAT como o alvo da interação do complexo [Cu(isaenim)]²⁺, segundo a informação experimental [8] de que a base Guanina apresenta a maior energia de interação com o complexo [Cu(isaenim)]²⁺, quando em solução.

O complexo supramolecular CIE-DNA foi construído a partir do *docking* manual do complexo de cobre na sequência GAT do DNA. Além disso, as constantes de força que regem a interação entre o cobre e os átomos de nitrogênio e de oxigênio foram fornecidas por resultados obtidos anteriormente pelo nosso grupo de pesquisa [54]. Para construir os arquivos iniciais das simulações de dinâmica clássica do complexo supramolecular CIE-DNA, adotamos o mesmo procedimento usado na seção 4.3.2.1 para os sistemas DST-DNA e FUR-DNA. O sistema CIE-DNA foi neutralizado pela adição de 16 contra-íons de Na⁺ e sua solvatação foi realizada em uma célula unitária de volume 87x91x94 Å³ com as

moléculas de água do tipo TIP3P [117]. O sistema total (complexo supramolecular CIE-DNA, contra-íons e moléculas de água) será chamado sistema CIE-DNA.

4.3.3.1. Simulação de dinâmica molecular clássica do sistema CIE-DNA

O sistema CIE-DNA foi minimizado e aquecido de 0 a 300 K utilizando o mesmo procedimento realizado para os complexos supramoleculares DST-DNA e FUR-DNA. A trajetória de 6 ns da dinâmica molecular clássica para o sistema CIE-DNA foi desenvolvida com o pacote computacional NAMD. A Figura 4-33 mostra os parâmetros termodinâmicos durante a dinâmica molecular clássica do sistema CIE-DNA.



Figura 4-33. Parâmetros termodinâmicos durante a dinâmica molecular clássica do sistema CIE-DNA em solvente explícito: a) Energias (kcal/mol) cinética em vermelho, potencial em verde e total em azul; b) temperatura (K) em magenta, c) Volume (Å³) em ciano e d) Pressão (atm) em marrom.

Por sua vez, o RMSD do sistema CIE-DNA é apresentado na Figura 4-34, onde observamos que os valores médios do RMSD foram iguais a $2,17\pm0,58$ Å para o DNA, e $3,43\pm0,61$ Å para o complexo [Cu(isaenim)]²⁺.



Figura 4-34. RMSD (Å) do DNA (preto) e do complexo [Cu(isaenim)]²⁺ (cinza) durante a dinâmica molecular clássica do sistema CIE-DNA em solvente explícito.

A Figura 4-33 e a Figura 4-34 mostram que as propriedades termodinâmicas e o RMSD do sistema CIE-DNA alcançaram o equilíbrio.

O comportamento das variáveis coletivas d_{CM} e n_{HB} mostrou que o complexo metálico permaneceu ligado ao oligômero de DNA durante a dinâmica molecular clássica do complexo supramolecular, tal como mostrado na Figura 4-35. A variável coletiva d_{CM} indica que o centro de massa do complexo [Cu(isaenim)]²⁺ permaneceu a uma distância média igual a 7,07±0,46 Å da sequência de bases [GAT]₂, e o comportamento do n_{HB} mostrou que, em média, 7,8±0,8 ligações de hidrogênio foram realizadas durante a trajetória de dinâmica molecular clássica. Devido a equação (114) utilizada para contar n_{HB} ser uma função do tipo não degrau, mas como um decaimento exponencial com a distância entre os átomos aceitadores e doadores, obtemos um valor considerado elevado de ligações de hidrogênio para este complexo de cobre.



Figura 4-35. Evolução das variáveis coletivas durante a dinâmica molecular clássica do sistema CIE-DNA: a) distância (Å) do centro de massa d_{CM} e b) número de ligações de hidrogênio n_{HB} entre o complexo [Cu(isaenim)]²⁺ e o DNA.

As ocupações dos sítios de ligações de hidrogênio durante a dinâmica molecular clássica do sistema CIE-DNA apresentado na Tabela 4-23 revelam substancialmente as Timinas 5 e 17 como sítios aceitadores.

Tabela 4-23. Ocupação dos doadores e aceitadores de ligação de hidrogênio durante a dinâmica molecular clássica do sistema CIE-DNA. Notação segundo a Figura 4-18c.

Doador	Aceitador	Ocupação
CIE	T-5	79,66%
CIE	T-17	8,38%

Os átomos de oxigênio dos principais sítios aceitadores do oligômero de DNA, responsáveis pela ligações de hidrogênio durante a dinâmica molecular do sistema CIE-DNA, podem ser vistos na Figura 4-36. Os sítios aceitadores, as Timinas 5 e 17, dispõem-se na diagonal do sulco menor do oligômero DNA, facilitando as interações intermoleculares com o sítio doador, que é o nitrogênio protonado do complexo $[Cu(isaenim)]^{2+}$ na forma ceto.



Figura 4-36. Átomos de oxigênio dos sítios aceitadores responsáveis pelas ligações de hidrogênio do sistema CIE-DNA durante a dinâmica molecular clássica. As convenções de cores dos átomos são: verde (C), branca (H), azul (N), vermelha (O) e dourada (Cu).

4.3.3.2. Dissociação do complexo supramolecular CIE-DNA

A dissociação do complexo supramolecular CIE-DNA foi realizada utilizando o procedimento descrito na seção 4.3.2.2. A partir das duas variáveis coletivas d_{CM} e n_{HB} obtemos tanto a superfície de energia livre da dissociação do sistema CIE-DNA, como as estruturas intermediárias de cada etapa do processo, exibidas na Figura 4-37.



Figura 4-37. Superfície de energia livre (kcal/mol) obtida a partir da dissociação do sistema CIE-DNA.

A energia livre de dissociação ΔG do complexo supramolecular CIE-DNA pode ser estimada pela diferença de energia de livre entre as estruturas 2 e 10. A estrutura 2 representa o estado ligado de menor energia, e a estrutura 10 indica o estado não ligado, cujo o oligômero não sente a presença do complexo. Finalmente, comparando os valores absolutos de ΔG teórico, obtida por metadinâmica, e de ΔG experimental [8], encontramos uma boa concordância, conforme apresentado na Tabela 4-24, apesar de utilizarmos um modelo reduzido (oligômero de 10 pares de bases+[Cu(isaenim)]²⁺) para representar o sistema real (DNA plasmidial+[Cu(isaenim)]²⁺).

Tabela 4-24. Diferença de energia livre (kcal/mol) teórica e experimental [8] para o complexo supramolecular CIE-DNA.

Complexo supramolecular	$\Delta {m G}$ teórico	$\Delta \boldsymbol{G}$ experimental [8]	
CIE-DNA	10	10,7	

O processo de dissociação do complexo $[Cu(isaenim)]^{2+}$ pode ser acompanhado pelas interações eletrostática e de *VdW* entre o complexo e a sequência de pares de bases GAT. A Tabela 4-25 mostra as energias das interações eletrostática e de *VdW* de cada uma estruturas no processo de dissociação do sistema CIE-DNA, indicadas na Figura 4-37. Observamos que nos pontos 2 e 4 houve o aumento do valor da energia da interação eletrostática, e nos pontos 3 e 5 essa diminuiu consideravelmente devido ao cobre não interagir com o DNA. Verificamos ainda que, devido à queda nos valores das interações eletrostática e de *VdW*, o ponto 10 representa o estado dissociado do complexo supramolecular CIE-DNA.

Estrutura	Interação Eletrostática	Interação de <i>VdW</i>	Total
1	-133,22	-25,76	-158,97
2	-118,25	-26,73	-144,97
3	-146,64	-18,87	-165,51
4	-85,88	-18,61	-104,50
5	-105,14	-14,34	-119,49
6	-73,85	-9,33	-83,17
7	-57,15	-6,10	-63,25
8	-37,37	-3,31	-40,68
9	-20,33	-0,34	-20,67
10	-20,48	-0,41	-20,89

Tabela 4-25. Energias (kcal/mol) das interações eletrostática e de *VdW* durante a dissociação do complexo supramolecular CIE-DNA.

4.3.4. Cálculo do acoplamento hiperfino no Cu para o complexo [Cu(isaenim)]²⁺ inserido no sulco menor do DNA

Os estudos de dinâmica molecular e metadinâmica clássica do complexo supramolecular CIE-DNA em solvente explícito indicaram uma região de mínima energia livre representada pelas estruturas 1 e 2 na Figura 4-37. O processo de dissociação do sistema CIE-DNA, realizado com metadinâmica, revelou uma segunda região de mínima energia indicada pelos pontos correspondentes às estruturas de 3 a 7. Portanto, denominaremos, segundo as estruturas indicadas na Figura 4-37, as duas regiões de mínima de energia livre como bacias 1-2 e 3-7. Na bacia 3-7, o [Cu(isaenim)]²⁺ está parcialmente inserido no sulco menor do DNA e interage mais fracamente por meio de interações de

VdW, antes do desligamento total do complexo indicado na estrutura 8, conforme visto na Tabela 4-25.

Focaremos nosso estudo nas estruturas da bacia 1-2, que apresentam o $[Cu(isaenim)]^{2+}$ inserido completamente no sulco menor do DNA, pois estamos interessados em quantificar a interação do metal do complexo com o oligômero de DNA; para isso, utilizaremos os cálculos do tensor hiperfino. As estruturas do sistema CIE-DNA, dentro da bacia 1-2, apresentam distâncias entre os centros de massa do complexo e da sequência de bases nitrogenadas GAT da ordem de 7,5 Å, e se separam da bacia 3-7 por uma barreira de até 5 kcal/mol. Em especial, notamos que estas estruturas mostram o metal do complexo [Cu(isaenim)]²⁺ interagindo com o oxigênio da desoxirribose do oligômero e com uma molécula de água durante as simulações clássicas (dinâmica molecular e metadinâmica). A Figura 4-38 apresenta uma estrutura representativa do CIE-DNA da bacia 1-2 na superfície de energia livre de dissociação.



Figura 4-38. Representação do complexo [Cu(isaenim)]²⁺ interagindo com o sulco menor do DNA dentro da bacia 1-2. O destaque no círculo em vermelho indica o cobre coordenado pela desoxirribose e uma molécula de água. As convenções de cores dos átomos são: verde (C), branca (H), azul (N), vermelha (O), bege (P) e dourada (Cu).

Na Figura 4-39 exibimos a função de distribuição radial g(r) do par Cu-O^{desoxi}, sendo O^{desoxi} o oxigênio da desoxirribose do oligômero de DNA para as estruturas dentro da bacia 1-2.



Figura 4-39. Função de distribuição radial g(r) do par Cu-O^{desoxi} das estruturas na bacia 1-2.

Indicamos, na figura acima, as distâncias do Cu-O^{desoxi} mais amostradas quando o complexo [Cu(isaenim)]²⁺ está completamente inserido no sulco menor do DNA. Com base nos cálculos do tensor de acoplamento hiperfino no cobre no equilíbrio ceto-enol, podemos afirmar que o valor experimental do $A_{||}$ é bem descrito quando a primeira camada de solvatação está completa. Selecionamos 6 estruturas representativas entre as distâncias do Cu-O^{desoxi} expostas na Figura 4-39, a saber: 2,74; 2,94; 3,04; 3,44; 3,65 e 3,69 Å. De modo a reduzir o custo computacional, consideramos para o cálculo do tensor hiperfino somente o sistema representado pelo complexo, uma molécula de água e pelo anel da desoxirribose, o qual denominaremos [Cu(isaenim)]²⁺-desoxi-água. Em seguida, adicionamos hidrogênios na desoxirribose para que o sistema tivesse carga total igual a +2, de modo a reproduzir o estado de oxidação do cobre. As estruturas construídas [Cu(isaenim)]²⁺-desoxi-água são apresentadas na Figura 4-40.



Figura 4-40. Representação das geometrias dos sistemas [Cu(isaenim)]²⁺-desoxi-água selecionadas segundo as distâncias Cu-O^{desoxi} indicadas na Figura 4-39.

Finalmente, para cada uma das geometrias exibidas na Figura 4-40, realizamos o cálculo do tensor hiperfino $A_{||}$ conforme indicado na seção 4.2.2. A Tabela 4-26 mostra o valor do acoplamento hiperfino no Cu calculado para as 6 geometrias do sistema $[Cu(isaenim)]^{2+}$ -desoxi-água e o valor da média ponderada considerando as contribuições das distância do par Cu-O^{desoxi} amostradas na função de distribuição radial g(r) na Figura 4-39.

Geometrias	A
а	-631,65
b	-642,71
С	-631,13
d	-646,85
е	-649,92
f	-665,62
Média Ponderada	-639,64

Tabela 4-26. Acoplamento hiperfino $A_{||}$ (MHz) no Cu calculado para o sistema [Cu(isaenim)]²⁺-desoxi-água.

A média do valor do acoplamento hiperfino no Cu para o complexo $[Cu(isaenim)]^{2+}$, quando inserido no sulco menor do DNA (Tabela 4-26), caracteriza o estado de ligação na bacia 1-2. No entanto, os experimentos de EPR, com pH neutro tanto na ausência quanto na presença de DNA plasmidial, não mostraram diferenças significativas nos valores de A_{\parallel} , revelando um acoplamento hiperfino no cobre de mesma ordem ao obtido quando o complexo está em solução aquosa, a saber ~ - 605,58 *MHz* (seção 4.2.2) [8]. Além disso, apesar do acoplamento hiperfino experimental ser muito próximo a média ponderada do tensor calculado $A_{\parallel} = -639,64 MHz$ obtido quando inserido no sulco menor do DNA, uma investigação mais rigorosa deve ser feita, pois a simulação considerou somente a possibilidade da forma ceto. Conforme discutido sobre o equilíbrio ceto-enol em uma solução de pH neutro, existe a possibilidade da presença e interação das formas ceto e enol com o DNA. Além disso, devido ao complexo de Cu estar em um ambiente majoritariamente de sítios aceitadores, existe a possibilidade, ainda que remota, da forma ceto interagir com o sulco menor, e doar um hidrogênio para as bases nitrogenadas tornando-se a forma enol.

Para elucidar os resultados teórico e experimental de $A_{||}$, o grupo experimental investiga, até o presente momento, o sistema CIE-DNA, construídos de oligômeros de DNA formados por diferentes combinações de bases nitrogenadas, por meio da espectroscopia de massa e de EPR de modo a estudar os estados intermediários de ligação do [Cu(isaenim)]²⁺ e o mecanismo de ligação de complexos metálicos no DNA. Do lado teórico, a investigação pode ser aprofundada de modo a corrigir o potencial que descreve as interações Cu-O^{água} e Cu-O^{desoxi}, uma vez que o valor do tensor de acoplamento hiperfino calculado depende fortemente da coordenação no meio onde o complexo está inserido. Além disso, um estudo mais quantitativo da interação das formas ceto e enol com diferentes oligômeros pode ser realizado para investigar a preferência por diferentes sequências de bases nitrogenadas.

Capítulo 5

Conclusões

Neste trabalho estudamos complexos metálicos em diferentes ambientes de coordenação, utilizando para isso o esquema de Kohn-Sham para a Teoria do Funcional da Densidade. Em alguns casos, utilizamos também a dinâmica molecular clássica e a híbrida QMMM para examinar o efeito do solvente explícito. Inicialmente, investigamos a coordenação metálica através de cálculos de interações hiperfinas elétricas, avaliando a estabilidade do metal em uma família de *Crown thioethers* complexados com Ag e Cd. Em seguida, através do cálculo das interações hiperfinas magnéticas de bases de *Schiff* complexadas com Cu, investigamos o equilíbrio ceto-enol. Por fim, para o complexo [Cu(isaenim)]²⁺, propusemos uma rota de reconhecimento molecular em um oligômero de DNA.

No estudo sistemático dos *Crown thioethers* coordenados à Ag e ao Cd primeiramente procuramos responder se dentro da janela de tempo da medida TDPAC seria observada a frequência do Cd^{+/2+} no ambiente da Ag⁺ ou na geometria relaxada do próprio Cd^{+/2+}. Com este propósito, investigamos o comportamento estrutural e hiperfino destes complexos de Ag⁺ empregando um modelo isolado no vácuo e na ausência dos contra-íons, cujos resultados mostraram que após a relaxação dos sistemas não foram observadas grandes variações nas distâncias S-Ag. Em seguida, o estudo da geometria dos complexos [X(18S6)]ⁿ, [X(19S6-OH)]ⁿ e [X(20S6-OH)]ⁿ revelou a expulsão do metal para X=Cd⁺, e seu encapsulamento para X=Cd²⁺. O tensor GCE calculado para os complexos de Cd²⁺, ainda na geometria da Ag⁺, é mais próximo da medida experimental do que quando na posição otimizada do Cd²⁺. Nossos resultados também confirmam, como esperado, que para o Cd⁺ indicou um estado de instabilidade, devido ao valor do *V_{zz}*, após a otimização, apresentar um forte decaimento; e quando comparado ao valor experimental foi observado um desvio ainda maior. De um modo geral, a investigação estrutural e hiperfina elétrica

destes complexos metálicos evidenciou que a medida TDPAC foi realizada após o decaimento nuclear e antes da relaxação do sistema, ou seja, sobre o cádmio, sendo +2 o estado correto da carga total. Além disso, nos três casos estudados inferimos que a janela de tempo da medida hiperfina identifica um estado intermediário entre as geometrias otimizadas da Ag^+ e do Cd^{2+} , sendo este mais próximo da geometria da Ag^+ .

No caso das bases de Schiff coordenadas ao Cu, inicialmente estudamos a coordenação metálica no equilíbrio ceto-enol do complexo $[Cu(isaenim)]^{2+/+}$ no vácuo e sob solvatação explícita de moléculas de água, por meio do cálculo do tensor de acoplamento hiperfino A_{II} . Devido à inexistência até o presente momento de informações estruturais sobre o complexo [Cu(isaenim)]²⁺, através de determinação estrutural, por exemplo, pela difração de raios-X, consideramos o complexo [Cu(baghat)]²⁺ como referência, pois sua estrutura cristalográfica no banco de dados CCDC apresenta características estruturais similares às do nosso complexo. Realizamos testes para indicar um funcional dentro do esquema de Khon-Sham para a teoria do funcional da densidade e um conjunto de bases gaussianas que reproduzissem a geometria de coordenação no vácuo, optando pelo funcional PBE0 e pela base QZVP, respectivamente. Por sua vez, o estudo do $[Cu(isaenim)]^{2+}$ em um ambiente de solvente explícito, utilizando duas abordagens de dinâmica molecular (a clássica e a híbrida QMMM), revelou que a primeira camada de solvatação do cobre contém duas moléculas de água. A principal diferença observada, entre as simulações de dinâmica molecular, é a menor distância média para o par Cu-Oágua quando comparada à obtida na trajetória clássica. A fim de escolher um funcional, dentro do esquema Khon-Sham, e um conjunto de bases gaussianas que reproduzisse a medida hiperfina A_{\parallel} , realizamos testes com o complexo [CuCl₄]²⁻ na simetria D_{4h} [119]. O funcional BHANDHLYP, com a inclusão de 50% de troca HF, a base TZVP e o uso da correção escalar relativística de ordem zero (ZORA) foram os responsáveis pelo aumento considerável na interação spin-órbita e pela diminuição na contribuição de contato de Fermi, reproduzindo da melhor forma o valor experimental $A_{||}$. Em resumo, as comparações experimental e teórica entre os valores dos tensores hiperfinos no cobre mostraram que o funcional BHANDHLYP obteve a melhor descrição do valor experimental, sendo, dessa maneira, o escolhido para calcular o acoplamento hiperfino no cobre do complexo $[Cu(isaenim)]^{2+}$.

A partir de um modelo construído com o complexo $[Cu(isaenim)]^{2+/+}$ nas formas ceto e enol, tanto na presença e quanto na ausência de duas águas coordenadas axialmente ao metal, calculamos o tensor hiperfino $A_{||}$. Na fase gasosa (ausência de água), o cálculo do acoplamento hiperfino no cobre não apresentou resultados satisfatórios; por sua vez, a adição de duas moléculas de água coordenadas ao metal foi fundamental para reproduzir a medida da interação hiperfina magnética. Ressaltamos também que a distância entre as moléculas de água e o metal foi de extrema importância para obter um valor de $A_{||}$ próximo ao experimental.

Devido à complexidade de se estudar a interação do complexo $[Cu(isaenim]^{2+} com$ o DNA, realizamos simulações de dinâmica molecular clássica em solvente explícito de três sistemas introdutórios: um oligômero de DNA e dois complexos supramoleculares DST-DNA e FUR-DNA. Nestes três estudos sob o ensemble NPT observamos o equilíbrio termodinâmico quando as propriedades, tais como as energias cinética, potencial e total, como também volume, pressão e RMSD, mantiveram-se constantes durante a dinâmica molecular clássica. Investigamos também o reconhecimento molecular dos ligantes DST e FUR por meio da dissociação dos sistemas DST-DNA e FUR-DNA, utilizando a metadinâmica. Com o auxílio desta técnica e de duas coordenadas de reação, a distância dos centros de massa (d_{CM}) e o número de ligações de hidrogênio (n_{HB}) entre o DNA e os ligantes DST e FUR, obtivemos a superfície de energia livre, as estruturas intermediárias e, ainda, estimamos a variação de energia livre no processo. Essa variação, obtida pela diferença de energia livre entre o estado ligado de menor energia e o primeiro não ligado, estava próxima aos resultados experimentais. Finalmente, a interação do complexo [Cu(isaenim)]²⁺ com o DNA foi investigada em duas etapas: por meio da dissociação do complexo supramolecular [Cu(isaenim)]²⁺-DNA (CIE-DNA) e pelo cálculo da interação hiperfina no metal do complexo de Cu, quando inserido no sulco menor do DNA. O complexo supramolecular CIE-DNA, construído por meio do docking manual sobre a sequência GAT do oligômero de DNA baseado na preferência de interação do complexo [Cu(isaenim)]²⁺ pela Guanina, foi simulado em solvente explícito por dinâmica molecular clássica até o alcance do equilíbrio termodinâmico. Utilizando o procedimento desenvolvido para os sitemas DST-DNA e FUR-DNA, realizamos a dissociação do CIE-DNA, e, deste modo, obtivemos tanto a superfície de energia livre quanto as estruturas intermediárias, estimando a variação de energia livre no processo. Para o CIE-DNA, a diferença de energia livre alcançou boa concordância com o resultado experimental disponível na literatura. Entretanto, esta comparação é ainda preliminar, pois não estudamos aqui oligômeros construídos a partir de diferentes combinações de pares de bases nitrogenadas para descobrir se existe preferência de ligação do complexo [Cu(isaenim)]²⁺ em uma sequência específica.

A partir das simulações de dinâmica molecular clássica e metadinâmica conseguimos estabelecer estruturas representativas da interação do complexo [Cu(isaenim)]²⁺ no sulco menor do oligômero de DNA. Caracterizamos teoricamente a posição na região de mínima energia livre a partir do cálculo do acoplamento hiperfino no Cu, comparando-a com a interação hiperfina observada na fase líquida.

Embora, os valores dos tensores hiperfinos calculado e o $A_{||}$ experimental apresentassem boa concordância, ressaltamos a simulação foi realizada somente com a forma ceto. Devido ao pH neutro utilizado no experimento dar a possibilidade da presença das formas ceto e enol, a forma enol também deve ser estudada futuramente. Conforme verificado no estudo do equilíbrio ceto-enol, as causas desta concordância são devido a presença do solvente e da metodologia empregada no cálculo do tensor hiperfino. No entanto, alguns fatores importantes devem ainda ser investigados como: a) a possibilidade da forma enol no pH neutro; b) o potencial de interação entre o Cu e as moléculas de água, ainda não corrigido para a simulação de dinâmica molecular clássica; e c) o sítio de interação do complexo [Cu(isaenim)]²⁺ na região do sulco menor do DNA que, além do indicado neste trabalho, pode ser na posição intercalada entre dois pares de bases nitrogenadas. Como já dito, a ligação deste complexo na região do sulco maior do DNA foi descartada, devido as experiências realizadas com ligantes típicos do sulco menor pelo grupo da Profa. Ana Maria da Costa Ferreira.

Por fim, descobrir as sequências alvos de interações mais relevantes é um trabalho árduo e ousado, e aqui contaremos com a experiência do grupo da Profa. Ana Maria da Costa Ferreira (IQUSP). Esse estudo introdutório da interação termodinâmica e hiperfina de um complexo de cobre representa apenas o começo de uma série de simulações para identificar qual é a melhor sequência alvo do DNA para a ligação de complexos metálicos do tipo estudado. Quer-se ainda verificar quais fatores influenciam nesta interação, o modo como ela ocorre e, assim, investigar a reação química que desencadeia as clivagens do DNA mediadas pelo complexo de cobre.

Capítulo 6

Referências

- [1] E. Frieden, Sci. Am. **227**, 52 (1972).
- [2] D. Voet and J. G. Voet, *Biochemistry*, 2nd ed. (John Wiley & Sons, Inc, 1995).
- [3] N. H. Horowitz, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. **31**, 153 (1945).
- [4] W. Kaim and B. Schwederski, *Bioinorganic Chemistry: Inorganic Elements in the Chemistry of Life : An Introduction and Guide* (John Wiley & Sons, Inc, 1994).
- [5] M. P. Abbot, Modificações Oxidativas Em Proteínas Em Complexos de Cobre(II), Universidade de São Paulo, 2007.
- [6] P. L. Holland and W. B. Tolman, Coord. Chem. Rev. 192, 855 (1999).
- [7] B. F. Gherman and C. J. Cramer, Coord. Chem. Rev. 253, 723 (2009).
- [8] V. C. da Silveira, J. S. Luz, C. C. Oliveira, I. Graziani, M. R. Ciriolo, and A. M. da Costa Ferreira, J. Inorg. Biochem. 102, 1090 (2008).
- [9] G. Cerchiaro, K. Aquilano, G. Filomeni, G. Rotilio, M. R. Ciriolo, and A. M. D. C. Ferreira, J. Inorg. Biochem. 99, 1433 (2005).
- [10] V. C. da Silveira, G. F. Caramori, M. P. Abbott, M. B. Gonçalves, H. M. Petrilli, and A. M. da Costa Ferreira, J. Inorg. Biochem. 103, 1331 (2009).
- [11] M. Azzellini, M. Machado, M. Miranda, and A. M. D. C. Ferreira, Comun. Priv. (2011).
- [12] G. Filomeni, S. Piccirillo, I. Graziani, S. Cardaci, A. M. Da Costa Ferreira, G. Rotilio, and M. R. Ciriolo, Carcinogenesis 30, 1115 (2009).
- [13] V. Uma, M. Elango, and B. U. Nair, Eur. J. Inorg. Chem. 2007, 3484 (2007).
- [14] A. Robertazzi, A. Magistrato, P. De Hoog, P. Carloni, J. Reedijk, and P. de Hoog, Inorg. Chem. 46, 5873 (2007).
- [15] C. A. Detmer III, F. V. Pamatong, J. R. Bocarsly, and C. A. Detmer, Inorg. Chem. 36, 3676 (1997).

- [16] J. M. Veal and R. L. Rill, Biochemistry 28, 3243 (1989).
- [17] J. M. Veal and R. L. Rill, Biochemistry 27, 1822 (1988).
- [18] J. M. Domínguez-Vera, A. Rodríguez, R. Cuesta, R. Kivekäs, and E. Colacio, J. Chem. Soc. Dalt. Trans. 4, 561 (2002).
- [19] V. C. da Silveira, Investigação Da Atividade Biológica de Complexos de Cobre (II) Com Ligantes Inspirados Em Biomoléculas, Universidade de São Paulo, 2008.
- [20] V. C. da Silveira, H. Benezra, J. S. Luz, R. C. Georg, C. C. Oliveira, and A. M. D. C. Ferreira, J. Inorg. Biochem. 105, 1692 (2011).
- P. M. Dias, L. Kinouti, V. R. L. Constantino, A. M. D. C. Ferreira, M. B. Gonçalves,
 R. R. do Nascimento, H. M. Petrilli, M. Caldas, and R. C. G. Frem, Quim. Nova 33, 2135 (2010).
- [22] S. R. Cooper, Acc. Chem. Res. 21, 141 (1988).
- [23] V. B. Pett, G. H. Leggett, T. H. Cooper, P. R. Reed, D. Situmeang, L. A. Ochrymowycz, and D. B. Rorabacher, Inorg. Chem. 27, 2164 (1988).
- [24] R. Alberto, W. Nef, A. Smith, T. a. Kaden, M. Neuburger, M. Zehnder, A. Frey, U. Abram, and P. A. Schubiger, Inorg. Chem. 35, 3420 (1996).
- [25] A. J. Blake, R. O. Gould, A. J. Holder, T. I. Hyde, and M. Schröder, Polyhedron 8, 513 (1989).
- [26] J. Meadow and E. Reid, J. Am. Chem. Soc. 56, 2177 (1934).
- [27] C. J. Pedersen, J. Am. Chem. Soc. 89, 7017 (1967).
- [28] W. Rosen and D. H. Busch, J. Am. Chem. Soc. 91, 4694 (1969).
- [29] W. Rosen and D. H. Busch, Inorg. Chem. 9, 262 (1970).
- [30] D. S. C. Black and I. A. McLean, Tetrahedron Lett. 10, 3961 (1969).
- [31] A. J. Blake, A. J. Holder, T. I. Hyde, H.-J. Kuppers, M. Schroder, S. Stotzel, and K. Wieghardt, J. Chem. Soc. Chem. Commun. 21, 1600 (1989).
- [32] A. J. Blake, A. J. Holder, G. Reid, and M. Schroder, J. Chem. Soc. Dalt. Trans. 5, 627 (1994).
- [33] T. F. Baumann, J. G. Reynolds, and G. A. Fox, React. Funct. Polym. 44, 111 (2000).
- [34] R. Schibli, R. Alberto, U. Abram, S. Abram, A. Egli, P. A. Schubiger, and T. A. Kaden, Inorg. Chem. 37, 3509 (1998).

- [35] C. Palomo, M. Oiarbide, R. López, and E. Gómez-Bengoa, Tetrahedron Lett. 41, 1283 (2000).
- [36] J. M. Desper, S. H. Gellman, R. E. Wolf, and S. R. Cooper, J. Am. Chem. Soc. 113, 8663 (1991).
- [37] L. Feng, Y. Geisselbrecht, S. Blanck, A. Wilbuer, G. E. Atilla-Gokcumen, P. Filippakopoulos, K. Kräling, M. A. Celik, K. Harms, J. Maksimoska, R. Marmorstein, G. Frenking, S. Knapp, L.-O. Essen, and E. Meggers, J. Am. Chem. Soc. 133, 5976 (2011).
- [38] G. J. Grant, K. E. Rogers, W. N. Setzer, and D. G. VanDerveer, Inorganica Chim. Acta 234, 35 (1995).
- [39] M. L. Helm, C. M. Combs, D. G. VanDerveer, and G. J. Grant, Inorganica Chim. Acta 338, 182 (2002).
- [40] W. Troger, Hyperfine Interact. 121, 117 (1999).
- [41] E. Meggers, G. Atilla-Gokcumen, H. Bregman, J. Maksimoska, S. Mulcahy, N. Pagano, and D. Williams, Synlett 2007, 1177 (2007).
- [42] F. Heinrich, B. Ctortecka, and W. Tröger, Hyperfine Interact. 158, 79 (2005).
- [43] B. Ctortecka, Rigidity and Adaptivity of Metal Sites in Macromolecules, Universitat Leipzig, 1999.
- [44] F. C. D. A. Lima, R. R. Do Nascimento, M. B. Gonçalves, S. Cottenier, M. J. Caldas, and H. M. Petrilli, Hyperfine Interact. 197, 23 (2010).
- [45] W. D. Cornell, P. Cieplak, C. I. Bayly, I. R. Gould, K. M. Merz, D. M. Ferguson, D. C. Spellmeyer, T. Fox, J. W. Caldwell, and P. a. Kollman, J. Am. Chem. Soc. 117, 5179 (1995).
- [46] P. K. Weiner and P. A. Kollman, J. Comput. Chem. 2, 287 (1981).
- [47] C. I. Bayly, P. Cieplak, W. D. Cornell, and P. A. Kollman, J. Phys. Chem. 97, 10269 (1993).
- [48]

Site:http://www.teokem.lu.se/~ulf/Methods/resp.html#How_to_determine_RESP_c harges_-_obsolete, Último Acesso 17/07/2014 (2014).

[49] A. D. MacKerell, N. Banavali, and N. Foloppe, Biopolymers 56, 257 (2000).

- [50] A. Pérez, I. Marchán, D. Svozil, J. Sponer, T. E. Cheatham, C. a Laughton, and M. Orozco, Biophys. J. 92, 3817 (2007).
- [51] J. Wang, R. M. Wolf, J. W. Caldwell, P. A. Kollman, and D. a Case, J. Comput. Chem. 25, 1157 (2004).
- [52] M. Christen, P. H. Hünenberger, D. Bakowies, R. Baron, R. Bürgi, D. P. Geerke, T. N. Heinz, M. A. Kastenholz, V. Kräutler, C. Oostenbrink, C. Peter, D. Trzesniak, and W. F. van Gunsteren, J. Comput. Chem. 26, 1719 (2005).
- [53] K. N. Kirschner, A. B. Yongye, S. M. Tschampel, J. González-Outeiriño, C. R. Daniels, B. L. Foley, and R. J. Woods, J. Comput. Chem. 29, 622 (2008).
- [54] M. B. Gonçalves, R. R. do Nascimento, P. Carloni, and H. M. Petrilli, Comun. Priv. (2012).
- [55] K. Spiegel, A. Magistrato, P. Maurer, P. Ruggerone, U. Rothlisberger, P. Carloni, J. A. N. Reedijk, and M. L. Klein, (2007).
- [56] M. P. Allen and D. J. Tildesley, *Computer Simulation of Liquids* (Oxford University Press, USA, 1989).
- [57] L. Verlet, Phys. Rev. 159, 98 (1967).
- [58] R. Kubo, M. Toda, N. Hashitsume, and N. Saito, Statistical Physics II: Nonequilibrium Statistical Mechanics (Springer Series in Solid-State Sciences, 31) (Springer, 1995).
- [59] V. T. MOTTA, *Bioquímica*, 2^a Ed. 201 (MEDBOOK, 2011), p. 461.
- [60] M. Sprik and G. Ciccotti, J. Chem. Phys. **109**, 7737 (1998).
- [61] E. A. Carter, G. Ciccotti, J. T. Hynes, and R. Kapral, Chem. Phys. Lett. **156**, 472 (1989).
- [62] G. N. Patey and J. P. Valleau, J. Chem. Phys. 63, 2334 (1975).
- [63] J. R. Gullingsrud, R. Braun, and K. Schulten, J. Comput. Phys. 151, 190 (1999).
- [64] A. Laio and M. Parrinello, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 99, 12562 (2002).
- [65] A. Laio and F. L. Gervasio, Reports Prog. Phys. 71, 126601 (2008).
- [66] M. Born and R. Oppenheimer, Ann. Phys. 84, 457 (1927).
- [67] P. Hohenberg and W. Kohn, Phys. Rev. 136, 864 (1964).
- [68] W. Kohn and L. J. Sham, Phys. Rev. 140, A1133 (1965).

- [69] J. D. M. Vianna, A. Fazzio, and S. Canuto, *Teoria Quântica de Moléculas E Sólidos: Simulação Computacional* (Editora Livraria da Física, São Paulo, 2004).
- [70] J. P. J. Perdew, K. Burke, and M. Ernzerhof, Phys. Rev. Lett. 77, 3865 (1996).
- [71] C. Lee, W. Yang, and R. G. Parr, Phys. Rev. B 37, 785 (1988).
- [72] J. P. Perdew and W. Yue, Phys. Rev. B **33**, 8800 (1986).
- [73] J. Perdew, Phys. Rev. B 33, 8822 (1986).
- [74] A. D. Becke, Phys. Rev. A **38**, 3098 (1988).
- [75] A. D. Becke, J. Chem. Phys. 98, 5648 (1993).
- [76] L. Wilk, S. H. Vosko, and M. Nusair, Can. J. Phys. 58, 1200 (1980).
- [77] C. Adamo and V. Barone, J. Chem. Phys. **110**, 6158 (1999).
- [78] M. J. et al Frisch and et. al, Gaussian 09, Revis. A.02 (2009).
- [79] F. Neese, Wiley Interdiscip. Rev. Comput. Mol. Sci. 2, 73 (2012).
- [80] A. Szabo and N. S. Ostlund, Modern Quantum Chemistry: Introduction to Advanced Electronic Structure Theory (Dover Books on Chemistry), New editio (Dover Publications, 1996).
- [81] A. Schäfer, C. Huber, and R. Ahlrichs, J. Chem. Phys. 100, 5829 (1994).
- [82] P. E. Blöchl, Phys. Rev. B 50, 17953 (1994).
- [83] A. R. Huamantinco, Estudo Da Superfície Au(111) E Da Adsorção de CH3S Em Au(111) Através Do Método PAW, Universidade de São Paulo, 2003.
- [84] R. Car and M. Parrinello, Phys. Rev. Lett. 55, 2471 (1985).
- [85] W. F. van Gunsteren et al, *Biomolecular Simulation: The GROMOS96 Manual and User Guide* (Hochschulverlag AG an der ETH Zürich, Zürich, 1996).
- [86] G. Schatz and A. Weidinger, Nuclear Condensed Matter Physics: Nuclear Methods and Application, Hardcover (John Wiley, 1996), p. 290.
- [87] M. H. Cohen and F. Reif, Solid State Phys. 5, 321 (1957).
- [88] E. van Lenthe, A. van der Avoird, and P. E. S. Wormer, J. Chem. Phys. 108, 4783 (1998).
- [89] F. Neese, J. Chem. Phys. **118**, 3939 (2003).
- [90] F. Neese, J. Chem. Phys. **115**, 11080 (2001).
- [91] S. Koseki, M. W. Schmidt, and M. S. Gordon, J. Phys. Chem. 96, 10768 (1992).

- [92] I. J. Bruno, J. C. Cole, P. R. Edgington, M. Kessler, C. F. Macrae, P. McCabe, J. Pearson, and R. Taylor, Acta Crystallogr. Sect. B 58, 389 (2002).
- [93] E. I. Solomon, Inorg. Chem. 45, 8012 (2006).
- [94] G. F. Caramori, R. L. T. Parreira, and A. M. D. C. Ferreira, Int. J. Quantum Chem. 112, 625 (2012).
- [95] J. J. P. Stewart, J. Mol. Model. 13, 1173 (2007).
- [96] E. Cancès, B. Mennucci, and J. Tomasi, J. Chem. Phys. 107, 3032 (1997).
- [97] Y. Duan, C. Wu, S. Chowdhury, M. C. Lee, G. Xiong, W. Zhang, R. Yang, P. Cieplak, R. Luo, T. Lee, J. Caldwell, J. Wang, and P. Kollman, J. Comput. Chem. 24, 1999 (2003).
- [98] S. E. Feller, Y. Zhang, R. W. Pastor, and B. R. Brooks, J. Chem. Phys. 103, 4613 (1995).
- [99] A. T. Brünger, *X-PLOR: Version 3.1: A System for X-Ray Crystallography and NMR* (Yale University Press, 1992).
- [100] G. J. Martyna, D. J. Tobias, and M. L. Klein, J. Chem. Phys. 101, 4177 (1994).
- [101] L. Kleinman and D. Bylander, Phys. Rev. Lett. 48, 1425 (1982).
- [102] R. K. Szilagyi, M. Metz, and E. I. Solomon, 2994 (2002).
- [103] C. Chow, J. Chem. Phys. **59**, 2629 (1973).
- [104] S. V Didziulis, S. L. Cohen, A. A. Gewirth, and E. I. Solomon, J. Am. Chem. Soc. 110, 250 (1988).
- [105] R. L. Harlow, W. J. Wells, G. W. Watt, and S. H. Simonsen, Inorg. Chem. 13, 2106 (1974).
- [106] A. Abragam and B. Bleaney, *Electron Paramagnetic Resonance of Transition Ions* (Clarendon P., 1970).
- [107] M. Kaupp, M. Bühl, and V. G. Malkin, *Calculation of NMR and EPR Parameters: Theory and Applications* (Wiley, 2006).
- [108] F. Neese, Inorganica Chim. Acta 337, 181 (2002).
- [109] P. Pyykko, Mol. Phys. 99, 1617 (2001).
- [110] G. H. Fuller, J. Phys. Chem. Ref. Data 5, 835 (1976).
- [111] C. A. Laughton, F. Tanious, C. M. Nunn, D. W. Boykin, W. D. Wilson, and S. Neidle, 2960, 5655 (1996).

- [112] R. Baliga and D. M. Crothers, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 97, 7814 (2000).
- [113] S. B. Dixit, D. L. Beveridge, D. A. Case, T. E. Cheatham, E. Giudice, F. Lankas, R. Lavery, J. H. Maddocks, R. Osman, H. Sklenar, K. M. Thayer, and P. Varnai, Biophys. J. 89, 3721 (2005).
- [114] P. G. Baraldi, A. Bovero, F. Fruttarolo, D. Preti, M. A. Tabrizi, M. G. Pavani, and R. Romagnoli, Med. Res. Rev. 24, 475 (2004).
- [115] A. V. Vargiu, P. Ruggerone, A. Magistrato, and P. Carloni, Nucleic Acids Res. 36, 5910 (2008).
- [116] K. Uytterhoeven, J. Sponer, and L. Van Meervelt, Eur. J. Biochem. 269, 2868 (2002).
- [117] W. L. Jorgensen, J. Chandrasekhar, J. D. Madura, R. W. Impey, and M. L. Klein, J. Chem. Phys. 79, 926 (1983).
- [118] W. Humphrey, A. Dalke, and K. Schulten, J. Mol. Graph. 14, 33 (1996).
- [119] C. Remenyi, R. Reviakine, and M. Kaupp, J. Phys. Chem. B 111, 8290 (2007).
- [120] F. Bergaya, B. K. G. Theng, and G. Lagaly, *Handbook of Clay Science* (Elsevier, Amsterdam, 2006).

Apêndices

A. Construção dos inputs para a Equilibração e Dinâmica Molecular Clássica do complexo [Cu(isaenim)]²⁺

Construirmos o campo de força de pares atômicos utilizado na simulação dinâmica molecular clássica do complexo $[Cu(isaenim)]^{2+}$ a partir das constantes dos potencias harmônicos (de mola) e de *Van der Waals* referentes aos átomos N, O, C e H, do campo de força *GAFF* [51], e do campo de força obtido por MBG [54] (indicados abaixo), para o cobre. Os parâmetros para o cobre obtidos pelo procedimento *Force Matching* a partir de uma dinâmica molecular quântica do complexo $[Cu(enim)H_2O]^{2+}$. O complexo $[Cu(enim)H_2O]^{2+}$ é estruturalmente similar ao $[Cu(isaenim)]^{2+}$ como pode ser visto na Figura 6-1.



Figura 6-1. Comparação estrutural entre o complexos: a) [Cu(isaenim)]²⁺ e b) [Cu(enim)H₂O]²⁺.

Devido ao campo de força MBG não estar incluído dentro da base de campos de força do AMBER11 [45,46], criamos o arquivo FRCMOD que fornecer informações das constantes de ligações, ângulos simples, ângulos de torção e ângulos impróprios de alguns tipos atômicos que não são descritos pelo campo de força *GAFF*. O conteúdo do arquivo FRCMOD é disposto em 5 sessões. A primeira sessão MASS descreve a massa atômica em unidades atômicas, a segunda e a terceira sessões BOND e ANGLE descrevem na 2^a.

coluna as constantes dos potenciais harmônicos referentes aos potenciais de ligação e de ângulo em kcal/mol.Å² e kcal/mol.rad², e na 3^a. coluna as distâncias de equilíbrio em Å referentes aos pares e as trincas de átomos representados na 1^a. coluna. A quarta e a quinta sessões DIHE e IMPROPER descrevem os parâmetros das equações de torsão de ângulos diedros ou impróprios representados nas três ultimas colunas pela amplitude da barreira de energia, a fase e a periodicidade da função, respectivamente. A sexta sessão NONBON exibe na 2^a. coluna o raio de *Van der Waals* em Å e na 3^a. coluna a profundidade do poço do potencial de LJ, em kcal/mol. O arquivo FRCMOD para o complexo [Cu(isaenim)]²⁺ é descrito abaixo:

#1# cie.frcmod file
remark goes here
MASS
Cu 63.6

BOND						
n2-Cu 43.50371	1.97	k values fr	om brown fm cm	omd 2013		
nc-Cu 44.44732	1.97	k values fr	om brown fm cm	omd 2013		
o -Cu 39.47897	2.04	k values fr	om browm fm c	omd 2013		
 c3-ne 313.80	1.477	same as c3-	-n2	-		
ne-Cu 43.50371	1.97	same as n2	2-Cu			
ANGLE						
n2-Cu-ne 47.00994	82.540					
n2-Cu-nc 72.66841	162.650	same as n2-0	Cu-ne			
n2-Cu-o 21.1052	84.630					
n2-cc-ca 68.510	120.720	same as ca-c	ce-n2			
c3-n2-Cu 21.5153	32 116.260					
c3-n2-cc 65.370	118.520	same as c3-r	12-ce			
c3-c3-ne 66.400	109.160	same as c3-c	:3-n2			
c3-ne-ce 65.370	118.520	same as c3-r	12-ce			
c3-ne-Cu 21.5153	32 115.85	same as c3-n2	2-Cu			
h1-c3-ne 49.260	109.610	same as h1-c	:3-n2			
ne-ce-cc 66.249	121.305	Calculated w	ith empirical	approach		
ne-ce-cc 68.910	121.690	same as cc-c	ce-n2			
ne-Cu-nc 72.6684	11 84.49	same as n2-	-Cu-nc			
ne-Cu-o 21.1052	22 165.43	same as n2-Cu	1-0			
ce-ne-Cu 25.8241	115.85					
cc-nc-Cu 13.3825	109.670					
cd-nc-Cu 13.3825	143.650					
nc-Cu-o 25.3343	32 110.320	same as ne-0	lu-o			
Cu-n2-cc 25.8241	12 113.890					
Cu-o -c 40.000	10/.680					
DIHE	1 000	100 000	2 000			
n2-Cu-ne-co 1	1 000	180.000	2.000			
n2-Cu-na-aa 1	1 000	190.000	2.000			
n2-Cu-nc-cd 1	1 000	180 000	2.000			
n2-Cu-o -c 1	1 000	180 000	2.000			
n2-cc-ca-ca 1	2 550	180 000	2 000	same as X -c2-ca-X		
c3-n2-Cu-ne 1	1.000	180.000	2.000			
c3-n2-Cu-nc 1	1.000	180.000	2.000	same as c3-n2-Cu-ne		
c3-n2-Cu-o 1	1.000	180.000	2.000			
c3-n2-cc-c 1	4.150	180.000	2.000	same as X -c2-n2-X		
c3-n2-cc-ca 1	4.150	180.000	2.000	same as X -c2-n2-X		
c3-ne-Cu-nc 1	1.000	180.000	2.000	same as c3-n2-Cu-nc		
c3-ne-Cu-o 1	1.000	180.000	2.000	same as c3-n2-Cu-o		
ne-ce-cc-cd 1	1.000	180.000	2.000	same as X -ce-ce-X		
ne-ce-cc-nc 1	1.000	180.000	2.000	same as X -ce-ce-X		
ne-Cu-n2-cc 1	1.000	180.000	2.000			
ne-Cu-nc-cc 1	1.000	180.000	2.000	same as n2-Cu-nc-cc		
ne-Cu-nc-cd 1	1.000	180.000	2.000	same as n2-Cu-nc-cd		
ne-Cu-o -c 1	1.000	180.000	2.000	same as n2-Cu-o -c		
ce-ne-Cu-nc 1	1.000	180.000	2.000			
	ce-ne-Cu-o	1 1	.000	180.000	2.000	
---------	-------------	--------	--------	---------	-------	-------------------------------------
	h4-ce-cc-cd	1 1	.000	180.000	2.000	same as X -ce-ce-X
	h4-ce-cc-nc	1 1	.000	180.000	2.000	same as X -ce-ce-X
	cc-nc-Cu-o	1 1	.000	180.000	2.000	
	cd-nc-Cu-o	1 1	.000	180.000	2.000	
	nc-Cu-n2-cc	1 1	.000	180.000	2.000	same as ne-Cu-n2-cc
	nc-Cu-o -c	1 1	.000	180.000	2.000	same as ne-Cu-o -c
	Cu-n2-cc-c	1 4	.150	180.000	2.000	same as X -c2-n2-X
	Cu-n2-cc-ca	1 4	.150	180.000	2.000	same as X -c2-n2-X
	Cu-o -c -cc	1 1	.000	180.000	2.000	
	Cu-o -c -n	1 1	.000	180.000	2.000	
	o -Cu-n2-cc	1 1	.000	180.000	2.000	
	c -cc-ca-ca	1 2	.550	180.000	2.000	same as X -c2-ca-X
	IMPROPER					
	Cu-c3-n2-cc		1.1	180.0	2.0	Using default value
	cc-h4-ce-ne		1.1	180.0	2.0	Using default value
	cd-ce-cc-nc		1.1	180.0	2.0	Using default value
	cc-h4-cd-na		1.1	180.0	2.0	Using default value
	cd-cd-na-hn		1.1	180.0	2.0	General improper torsional angle (2
general	atom types)					
	h5-na-cd-nc		1.1	180.0	2.0	Using default value
	cc-n -c -o	1	10.5	180.0	2.0	General improper torsional angle (2
general	atom types)					
	c -ca-cc-n2		1.1	180.0	2.0	Using default value
	ca-ca-ca-cc		1.1	180.0	2.0	Using default value
	ca-ca-ca-ha		1.1	180.0	2.0	General improper torsional angle (2
general	atom types)					
	ca-ca-ca-n		1.1	180.0	2.0	Using default value
	c -ca-n -hn		1.1	180.0	2.0	General improper torsional angle (2
general	atom types)					
	NONBON					
	Cu	1.2000	0.0500			

Os valores das cargas referentes a cada átomo foram derivadas de um potencial eletrostático obtido através de um calculo quântico em solvatação continua IEFPCM [96] de água sob o funcional B3LYP e base cc-pVTZ no código computacional Gaussian09, segundo o procedimento RESP [47,48,97]. Adicionamos a palavra chave IOp(6/33=2) no input do Gaussian09 que imprime no output as cargas esp. A junção das cargas esp e as coordenadas foi realizado por meio dos programas *antechamber* e *prepgen* do pacote AMBER através da rotina descrita abaixo:

```
    Extrair o potencial do output do Gaussian09:
espgen -i cuisa_opt.log -o cuisa_opt.esp
    Ajuste das cargas parciais de cada atomo:
respgen -i cuisa_opt.ac -o cuisa_opt.respin1 -f resp1
respgen -i cuisa_opt.ac -o cuisa_opt.respin2 -f resp2
resp -0 -i cuisa_opt.respin1 -o cuisa_opt.respout1 -e cuisa_opt.esp -t qout_stage1
resp -0 -i cuisa_opt.respin2 -o cuisa_opt.respout2 -e cuisa_opt.esp -q qout_stage1 -t
qout_stage2
    Utilize o programa antechamber para criar o arquivo PREP:
mkdir a
cp qout_stage2 cuisa_opt.ac cie.frcmod a/
cd a/
antechamber -i cuisa_opt.ac -fi ac -o cuisa_opt_resp.ac -fo ac -c rc -cf qout_stage2
```

Como produto final, obtemos um arquivo PREP, que contêm as informações das coordenadas internas e as cargas RESP do complexo metálico. Mais informações sobre o formato do arquivo PREP veja em <u>http://ambermd.org/doc/prep.html</u> (acessado em 20 de

abril de 2014). O conteúdo do arquivo PREP referente ao complexo [Cu(isaenim)]²⁺ é exibido abaixo:

0	0	2									
This CIE.r	is a : es	remark	line								
CIE	INT	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	DU	DEC							
0.0	000	OMIII	DU	DEG							
1	DUMM	DU	М	0	-1	-2	0.0	00	.0	.0	.00000
2	DUMM		M	2	1	-1	1.5	49	.0	.0	.00000
4	N1	nh	M	3	2	1	1.5	40	111.208	180.000	-0.033805
5	C1	c3	M	4	3	2	1.4	62	84.031	173.364	-0.043297
6 7	н9 н10	nı h1	E	5	4	3	1.0	198 194	112 056	-93.431 147 537	0.113746
8	C2	c3	M	5	4	3	1.5	51	107.920	25.658	-0.044720
9	H12	h1	E	8	5	4	1.0	94	111.093	-155.654	0.108146
10	N3	nı nh	M	8	5	4	1.4	63	109.550	-32.198	-0.047831
12	С	ce	М	11	8	5	1.2	88	128.218	-151.478	-0.012951
13	H8 C5	h4	E	12	11	8	1.0	91	123.539	1.499	0.202585
15	C7	cc	M	14	12	11	1.3	874	134.675	178.389	-0.095572
16	Н7	h4	E	15	14	12	1.0	81	132.037	0.585	0.216564
17	N4 H6	na hn	M E	15 17	14 15	12 14	1.3	572 014	105.329	-179.176	-0.128618
19	C6	cc	M	17	15	14	1.3	57	109.175	-0.051	-0.026826
20	H5	h5	E	19	17	15	1.0	81	123.742	-179.954	0.213644
21	NZ Cu	na Cu	M	21	19	17	1.3	920 970	143.654	-179.464	0.457569
23	0	os	М	22	21	19	2.0	01	110.321	-3.541	-0.427202
24 25	C3 C4	cd cc	M	23 24	22	21 22	1.2	252 524	107.984	170.670	0.504706
26	C12	ca	M	25	24	23	1.4	38	106.588	-179.262	0.019477
27	C13	ca	M	26	25	24	1.4	03	134.284	179.252	-0.113892
28 29	нз С8	na ca	E M	27	26 26	25 25	1.0	186	121.250	-0.826	-0.115790
30	Н	ha	Ε	29	27	26	1.0	84	119.836	-179.988	0.148704
31	С9 н1	ca ha	M	29 31	27 29	26	1.3	199	120.482	0.185	-0.092260
33	C10	ca	M	31	29	27	1.4	09	121.998	0.139	-0.144116
34	H2	ha	E	33	31	29	1.0	85	120.834	179.776	0.174854
35	C11 N	ca na	M	33	31	29 31	1.3	33	116.928 127 752	-0.179	-0.340513
37	H4	hn	E	36	35	33	1.0	14	125.084	-0.325	0.378869
LOOP											
Cu	N1										
C4	N1 N3										
N2	C5										
N	C3										
CII	CIZ										
IMPRO	PER	NT 1	C 4								
C5	H8	C	N3								
C7	С	C5	N2								
C5 C7	H7 C6	C7 N4	N4 H6								
Н5	N4	C6	N2								
Cu	C6	N2	C5								
C12	C3	C4	N1								
C13	C11	C12	C4								
C12	C8	C13	НЗ ц								
C8	C10	C9	Н1								
C9	C11	C10	H2								
C12 C11	CIU C3	N	H4								
DONE											
STOP											

No programa *leap*, as informações do campo de força *GAFF* são adicionadas através da função *source* e os arquivos PREP e FRCMOD foram carregados utilizando as funções *loadamberprep* e *loadamberparams* para construirmos o arquivo de topologia (TOP), que reúne as informações do campo de força do nosso complexo, dos contra-íons e das moléculas de água, e o arquivo das posições atômicas (CRD ou PBD) para o começo da simulação. No caso do complexo [Cu(isaenim)]²⁺ carregado, utilizando a função *addions* o programa *leap* adiciona contra-íons para que o sistema construído tenha carga total nula, e utilizando a função *solvatebox* o programa *leap* constrói uma célula unitária centrada no complexo preenchendo-a com moléculas de águas. A função *saveamberparm* salva os arquivos de topologia (TOP) e as coordenadas (CRD) do sistema constituído complexo+contra-íons+solvente. O *script* do programa *leap*, é descrito abaixo:

#2# Script para executar o programa leap tleap source leaprc.gaff loadamberprep cuisa_opt_resp.prep set CIE.1.0 type o set CIE.1.N1 type n2 set CIE.1.C3 type c set CIE.1.N type n set CIE.1.N3 type n2 set CIE.1.C5 type cc set CIE.1.N2 type nc set CIE.1.C7 type cc set CIE.1.C7 type cd set CIE.1.C6 type cd savemol2 CIE cie.mol2 1 saveoff CIE cie.lib loadamberparams cie.frcmod saveamberparm CIE cie.top cie.crd savepdb CIE cie.pdb addions CIE Cl- 0 solvatebox CIE TIP3PBOX 14 saveamberparm CIE cie_solv.top cie_solv.crd savepdb CIE cie solv.pdb quit

No *script* do programa *leap* utilizamos a função *set* para alterar alguns tipos atômicos indicados erroneamente pelo Ambertools como ligados ao cobre. A Figura 6-2 mostra os tipos atômicos do complexo [Cu(isaenim)]²⁺ antes (a) e depois (b) das alterações.



Figura 6-2. Indicação dos tipos atômicos a) errados e b) certos segundo o campo de força GAFF no complexo $[Cu(isaenim)]^{2+}$.

Realizamos a simulação de dinâmica clássica mantendo a temperatura e a pressão do sistema constantes, 300 K e 1 atm, respectivamente, utilizando o termostato e o barostato de Langevin [98-100] incluídos no código computacional NAMD. Os parâmetros do termostato de Langevin [99] utilizados para o controle da temperatura foram uma 300 K fator temperatura alvo (langevinTemp) de e um de amortecimento (langevinDamping) na dinâmica de *Langevin* para cada átomo do sistema de $5 ps^{-1}$ (o parâmetro "lanveginHydrogen on" indica que o fator de amortecimento também foi aplicado aos hidrogênios do sistema). A pressão do sistema foi controlada utilizando a combinação dos métodos de pressão constante de Nose-Hoover [100] no qual a flutuação da pistão é controlada com a dinâmica de Langevin [98]. Consideramos uma pressão alvo (langevinPistonTarget) de 1,01325 bar (1 atm) e um pistão com um período de oscilação (langevinPistonPeriod) e um fator de amortecimento (langevinPistonDecay) iguais a 200 e 100 *fs* (a temperatura do pistão foi a mesma do termostato "langevinPistonTemp 300"). Portanto, adicionamos as seguintes linhas indicadas abaixo no arquivo de configurações da simulação de dinâmica molecular clássica no NAMD.

# TEMPERATURE CONTROL	Б
langevin langevinDamping langevinTemp langevinHydrogen	on 5 300 on
# PRESURE CONTROL	
langevinPiston langevinPistonTarget langevinPistonPeriod langevinPistonDecay	on 1.01325 200 100 300

B. Construção dos arquivos iniciais da simulação de dinâmica molecular QMMM do complexo [Cu(isaenim)]²⁺ em solvente explicito

A construção dos arquivos iniciais da dinâmica molecular híbrida de *Car-Parrinello* (CP/MM) de um complexo [Cu(isaenim)]²⁺ necessita de uma simulação prévia de dinâmica molecular clássica já equilibrada. Utilizamos o último *frame* da trajetória de dinâmica molecular clássica do complexo [Cu(isaenim)]²⁺ em equilíbrio com as moléculas de água sob o *ensemble NPT* como estrutura de partida para a simulação de dinâmica molecular híbrida de *Car-Parrinello* (CP/MM). No entanto, devido ao volume da célula unitária de simulação na trajetória clássica não ser constante, realizamos a "reimagem" das coordenadas sobre a célula unitária inicial para executar a abordagem CP/MM no código computacional CPMD. A "reimagem" foi feita utilizando o programa *ptraj* do pacote AMBER11. Este procedimento é importante, pois o CPMD não interpreta as condições periódicas de contorno aplicadas pelo AMBER11 ou NAMD.

O programa *Conv_7.x* pertencente ao grupo *German Research School for Simulation Science* foi utilizado para criar os arquivos *gromos.inp* e *gromos.top* e converter os arquivos da dinâmica molecular clássica no formato AMBER para o formato GROMOS [52], cuja a interface do QMMM do CPMD utiliza. Os arquivos *gromos.inp* e *gromos.top* precisam de algumas modificações importantes para a abordagem CP/MM. No *gromos.inp* é necessário indicar o número de solutos e solventes idênticos, as condições periódicas de contorno e o número de camadas diferentes do nosso sistema. Por exemplo, foram indicados no arquivo *gromos.inp* três grupos: o solvente (moléculas de água), os contra-íons (Cl⁻) e soluto (complexo de Cobre). No arquivo *gromos.top* é necessário trocar os nomes dos tipos atômicos utilizados segundo o campos de força GROMOS.

C. Construção dos inputs para a Equilibração e Dinâmica Molecular Clássica de um oligômero de DNA sob solvatação explicita

Geramos a estrutura inicial de uma cadeia dupla hélice $A_{12}T_{12}$ de DNA utilizamos o programa *nab* e, em seguida, com o programa *leap* foi realizada a neutralização do sistema, adicionando 20 contra-íons Na⁺, e a solvatação explícita do oligômero de DNA com moléculas de água. Ambos programas, *nab* e *leap*, pertencem ao pacote computacional AMBER11. O script exemplo constrói no formato PDB a estrutura tridimensional do oligômero $A_{12}T_{12}$ de DNA no arquivo 3AT.pdb é descrito:

```
cat > dna.nab << EOF
molecule m;
m = fd_helix( "abdna", "atatatatatat", "dna" );
putpdb( "3AT.pdb", m, "-wwpdb");
EOF
source ~/PROGRAMS/modules/amber11.sh
nab dna.nab
./a.out
```

O *script* do programa *leap* foi utilizado para construir o arquivo de topologia utilizando a função *source* para carregar o campo de força *FF99SB_parmbsc0* [50] necessário para simulação de dinâmica molecular clássica do oligômero. A função *addions* foi utilizada para neutralizar a sequencia de bases nitrogenadas utilizando contra-íons de

Na⁺ e a função *solvatebox* constrói uma célula unitária centrada no complexo preenchendoa com moléculas de águas é descrito abaixo:

```
source ~/PROGRAMS/src/amber11/dat/leap/cmd/leaprc.ff99bsc0
3AT = loadpdb 3AT.pdb
saveamberparm 3AT 3AT_vac.top 3AT_vac.crd
savepdb 3AT 3AT_vac.pdb
addions 3AT Na+ 0
savepdb 3AT 3AT_cio.pdb
saveamberparm 3AT 3AT_cio.top 3AT_cio.crd
solvatebox 3AT TIP3PBOX 14.0
saveamberparm 3AT 3AT_wat.top 3AT_wat.crd
guit
```

D. Construção dos inputs para a Equilibração e Dinâmica Molecular Clássica dos complexos supramoleculares DST-DNA e FUR-DNA

Inicialmente extraímos os ligantes orgânicos DST e FUR dos PDBs 1JTL e 227D que não continham hidrogênios e utilizamos o programa *reduce* do pacote AMBERTOOLS para colocar os hidrogênios corretamente. O programa *DS Visualizer* foi utilizado para visualizarmos se os hidrogênios foram colocados corretamente segundo a Figura 4-21.

O script exemplo para o VMD para extrair a molécula DST do PDB 1JTL é descrito abaixo:

Scripts do VMD para o complexo supramolecular DST-DNA

```
#!/bin/bash
#cp /work/rafaelr/DNA_tutorial/vargiu/tuto_antechamber/DMY/0-Fairplay/DMY.pdb .
#Download PDB 1JTL
source ~/PROGRAMS/modules/amber11.sh #ambertools 1.5
cat > dmy.tcl << EOF
mol load pdb 1jtl.pdb
set dmy [atomselect 0 "resname DMY"]
\$dmy writepdb DMY.pdb
quit
EOF
vmd -dispdev text -e dmy.tcl
reduce DMY.pdb > dmy_h.pdb
babel -ipdb dmy h.pdb -oxyz dmy h.xyz
```

As parametrizações das moléculas DST e FUR foram realizadas utilizando o campo de força *GAFF* e as cargas foram obtidas pelo procedimento RESP, descrito anteriormente para o complexo [Cu(isaenim)]²⁺. Os arquivos PREP referentes aos ligantes DST e FUR foram obtidos como resultado destas parametrizações.

As construções dos complexos supramoleculares DST-[GCGATTAGCG]₂ e FUR-[GCGATTAGCG]₂ foram realizadas utilizando as molécula DST do PDB 1JTL e FUR do PDB 227D e uma cadeia de DNA [GCGATTAGCG]₂ gerada previamente no programa de *nab* do pacote AMBER11, conforme descrito abaixo por um *script* no programa VMD.

```
#!/bin/bash
#lst step
cp ../put_hydrogen/ljtl.pdb .
cp ../put_hydrogen/dmy_h.pdb .
cat > dna.nab << EOF
molecule m;
m = fd_helix( "abdna", "gcgattagcg", "dna" );
putpdb( "dna_atta.pdb", m, "-wwpdb");
EOF
source ~/PROGRAMS/modules/amberll.sh
nab dna.nab
./a.out</pre>
```

A construção dos sistemas DST-DNA e FUR-DNA foi realizada substituindo o oligômero dos PDB 1JTL e 227D pelo oligômero gerado pelo programa *nab*.

Os sistemas DST-DNA e FUR-DNA foram parametrizados utilizando o programa *leap* do pacote AMBER11, utilizando os arquivos PREP obtidos nas parametrizações dos ligantes isolados e carregando as coordenadas dos sistemas DST-DNA e FUR-DNA construídos. Um script descrito abaixo exibido como exemplo utiliza o programa leap para criar os arquivo PREP do DST-DNA.

script LEAP

```
#!/bin/bash
rm leap.* d* complex_dna_dmy.pdb com_*
cp ../resp_fit/a/dmy_resp.mol2 .
cp ../resp_fit/a/dmy.frcmod .
cp ../align_dna/dna_dmy_4.pdb .
source ~/PROGRAMS/modules/amber11.sh
cat > leap.dnadmy << EOF
source ~/PROGRAMS/src/amber11/dat/leap/cmd/leaprc.ff99bsc0
source leaprc.gaff</pre>
```

```
DMY = loadmol2 dmy_resp.mol2
loadamberparams dmy.frcmod
check DMY
saveamberparm DMY dmy.top dmy.crd
COM = loadpdb dna_dmy_4.pdb
saveamberparm COM com_vac.top com_vac.crd
savepdb COM complex_dna_dmy.pdb
addions COM Na+ 0
saveamberparm COM com_cio.top com_cio.crd
solvatebox COM TIP3PBOX 19.0
saveamberparm COM com_wat.top com_wat.crd
savepdb COM com_wat.pdb
quit
EOF
```

```
tleap -f leap.dnadmy
```

Anexo

A. Caracterização estrutural e ótica dos complexos dos [Cu(pyalen)]²⁺ e [Cu(apzpn)]²⁺

No âmbito da liberação controlada de fármacos, o grupo das Profas. Ana Maria da Costa Ferreira e Vera R. L. Constantino do IQ-USP realizaram estudos dos complexos $[Cu(pyalen)]^{2+}$ e $[Cu(apzpn)]^{2+}$ inseridos em lamelas de argila. As lamelas de argila são constituídas de folhas de SiO₄ e Mg(OH)₂ ou Al(OH)₃ e utilizadas como matrizes inorgânicas para suporte para reações químicas no meio industrial [120]. Uma representação esquemática dos complexos $[Cu(pyalen)]^{2+}$ e $[Cu(apzpn)]^{2+}$ é mostrada na Figura 0-1.



Figura 0-1. Representação esquemática (Fórmula estrutural condensada linear) dos complexos [Cu(pyalen)]²⁺ e [Cu(apzpn)]²⁺.

Na análise dos resultados de espectros UVVIS retirados de uma solução dos complexos de cobre inseridos nas lamelas de argila foram identificados picos na região de 500-550 nm característico de complexos de Cu⁺. O impressionante é que este pico se manteve estável durante dias mesmo quando exposto ao ar, no qual espécies com Cu⁺ são rapidamente oxidadas a Cu²⁺ devido a atmosfera rica em oxigênio. O estado de oxidação do íon Cu⁺ impõe ao complexo uma coordenação tetraédrica, enquanto que o Cu²⁺ uma

coordenação com quadrado planar. Sabendo que o estado de oxidação do cobre revela uma coordenação específica foi proposto um estudo teórico como o objetivo de investigar a coordenação do complexo de cobre mediante o seu espectro UVVIS característico.

Os complexos $[Cu(pyalen)]^n$ e $[Cu(apzpn)]^n$ foram submetidos a cálculos de estrutura eletrônica no código computacional CP-PAW sob o corte de onda plana de 40 Ry para obter a estruturas de mínima energia para os estados de carga n=+1 e n=+2 e configurações de spin S=0 (singleto) e S=1/2 (dubleto), respectivamente. As conformações de menor energia encontradas para os estados de carga e as configurações de spin investigados são mostrados na Figura 0-2. Na Figura 0-2 é possível ver a influência do estado de carga na geometria adquirida após a otimização dos complexos através do ângulo diedro ψ formado pelos 4 nitrogênios dos complexos [Cu(pyalen)]ⁿ e [Cu(apzpn)]ⁿ. Para as espécies estudadas com carga n=+1 foram encontradas geometrias com menor ângulo ψ , e consequentemente para a carga n=+2 obtemos geometrias com ângulos ψ superiores a 30°.



Figura 0-2. Conformações dos complexos [Cu(pyalen)]ⁿ e [Cu(apzpn)]ⁿ encontradas utilizando o pacote computacional CP-PAW. As conformações a) e b) são referentes ao complexo [Cu(pyalen)]²⁺ e c) e d) referentes ao complexo [Cu(pyalen)]⁺. As conformações e) e f) são referentes aos complexos [Cu(apzpn)]²⁺ e [Cu(apzpn)]⁺, respectivamente. Figura retirada da referência [21].

As conformações encontradas utilizando o método PAW *all-eletron* que utiliza o esquema de KS da DFT foram submetidas ao cálculo no pacote computacional Cerius2 com o método semi-empírico ZINDO para obter os espectros UVVIS característicos incluindo excitações simples entre os 30 orbitais ocupados e os 30 não ocupados (vazios). As transições óticas teóricas, em linhas, encontradas para as conformações do complexo $[Cu(pyalen)]^+$ com ângulos ψ de 33,68° (vermelho) e 42,76° (preto) são mostrados juntamente com o espectro UVVIS experimental na Figura 0-3.



Figura 0-3. Comparação entre o espectro UVVIS experimental e as transições óticas previstas pelo método ZINDO para as conformações com ângulos ψ de 33,68° e 42,78° do complexo [Cu(pyalen)]⁺¹. Figura retirada do artigo da referência [21].

Para o complexo $[Cu(pyalen)]^+$ com ângulo de torsão ψ igual a 42,76°, o pico observado no espectro de absorção experimental na região de 500-550 nm na Figura 0-3 foi identificado pelos cálculos como a transição ótica entre o *highest occupied molecular orbital* (HOMO) e o *lowest unoccupied molecular orbital* (LUMO), indicados pelos orbitais 50 e 51 na tabela da Figura 0-4. O restante das transições óticas previstas teoricamente é apresentado na Figura 0-4.



Figura 0-4. Transição óticas observadas no complexo $[Cu(pyalen)]^+$ com ângulo de torsão ψ igual a 42,76°. Figura retirada do artigo da referência [21].

As transições eletrônicas obtidas para o complexo $[Cu(apzpn)]^+$, com ângulo ψ igual a 42,44°, mostradas na Figura 0-5, tiveram um perfil muito parecido ao complexo $[Cu(pyalen)]^+$. Neste caso, observamos que para o complexo $[Cu(apzpn)]^+$ uma transição eletrônica do HOMO (orbital 59) para o LUMO (orbital 60) foi identificada no comprimento de onda igual a 557,40 nm.



Figura 0-5. Transições óticas previstas pelo método ZINDO para a conformação com ângulo ψ igual a 42,44° do complexo [Cu(apzpn)]⁺.

As investigações teóricas feitas sobre os complexos $[Cu(pyalen)]^n$ e $[Cu(apzpn)]^n$ para n=+1 e n=+2 com o pacote computacional CP-PAW mostraram distorções geométricas características dos estados de Cu⁺ e Cu²⁺. As geometrias obtidas para n=+2 para os $[Cu(pyalen)]^{2+}$ e $[Cu(apzpn)]^{2+}$ revelaram geometrias de coordenação mais planares, isto é, mais próximas das geometrias quadrado planares características de espécies de Cu²⁺. Para n=+1, os complexos $[Cu(pyalen)]^+$ e $[Cu(apzpn)]^+$ mostraram uma coordenação tetraédrica distorcida, característica de Cu⁺. O pacote computacional CP-PAW somente é capaz de reproduzir estados de mais baixa energia dos complexos investigados. Portanto, o método ZINDO foi utilizado para obter as transições eletrônicas dos complexos estudados.

As transições óticas teóricas do complexo $Cu(pyalen)]^+$ mostraram grande semelhança com o espectro UVVIS experimental obtido com o complexo de cobre inserido na lamela e ainda mostraram que as transições observadas na região de 500-550 nm somente são possíveis para conformações com coordenação tetraédrica distorcida. A transição eletrônica na região de 500-550 nm identificada como a transição entre os orbitais HOMO e LUMO mostraram uma banda de excitação MLCT (*metal to ligand charge transfer*) devido ao orbital HOMO apresentar um caráter misto d e π e o orbital LUMO um caráter principalmente π .

As conformações para n=+2 exibiram transições óticas totalmente diferentes do observado experimental. Além disso, técnicas experimentais com *X-ray Absorption Near Edge Spectroscopy* (XANES) e EPR mostraram que depois da inserção dos complexos de Cu^{2+} na lamela havia somente a presença de espécies de Cu^{+} . No caso do EPR, depois da inserção na lamela o sinal de Cu^{2+} desaparecia (EPR silencioso), caracterizando uma evidência de Cu^{+} de configuração eletrônica d¹⁰ paramagnética.