UNIVERSIDADE DE SAO PAULO
INSTITUTO DE FISICA E QUIMICA DE SAO CARLOS

inc

JOSE NELSON ONUCHIC

INVESTIGAÇÕES EM
BIOFISICA DA AGUA,
CASO ACIDO VIOLURICO

Dissertação apresentada ao IFQSC,

para obtenção do Título de Mestre

em Física Aplicada

ORIENTADOR

Prof. Dr. Sérgio Mascarenhas

DEPARTAMENTO DE FISICA E CIENCIA DOS MATERIAIS
São Carlos, 1982.

MEMBROS DA COMISSÃO JULGADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE _____
Jose Nelson Onuchic

APRESENTADA AO INSTITUTO DE FÍSICA E QUÍMICA DE SÃO CARLOS, DA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, EM 31 DE agosto DE 1982.

COMISSÃO JULGADORA:

Dr. Sergio Mascarenhas Oliveira - Orientador

Dr. Roberto Leal Lobo e Silva Filho

Dr. Francisco Lacaz de Moraes Vieira

A Maura, a meus pais e a meus irmãos

Este trabalho foi realizado com o apoio financeiro do
CNPq, CNEN, FINEP e FAPESP

AGRADECIMENTOS

=====

Agradeço,

Ao Prof. Sérgio Mascarenhas, pela amizade e pela orientação e estímulo para a realização deste trabalho.

Ao Prof. Enrico Clementi e à Dra. Giordina Coronsiu, pelo apoio, pelas idéias e por toda colaboração durante a realização de parte deste trabalho nos laboratórios da IBM em Poughkeepsie, New York.

Ao Dr. Ivan Ortega Blake, pelas idéias, discussões e colaboração prestada durante a minha estadia no México.

Ao Dr. Paul Barnes e ao John Quinn, pelas idéias, discussões e colaboração prestada durante a minha estadia na Inglaterra.

A Profa. Yvone Mascarenhas, pela proposição do ácido violúrico.

Ao Dr. Bassi e ao Dr. Bruns pelo programa CINDOM.

Ao Dr. Jan Slaets, ao Valdeci e ao Valdir, pelo apoio técnico e pela amizade.

A minha mãe, pela ajuda durante a confecção desta dissertação.

Ao Dorival pelos desenhos.

A todo pessoal do grupo de biofísica pela amizade e pelo apoio.

A todo pessoal do Instituto de Física e Química de São Carlos, pelo respeito com o qual fui tratado e pelo apoio necessário.

Ao Vanderlei, por toda amizade, desde o tempo da graduação.

A Maura, a meus irmãos e a meus pais por todo amor, carinho e compreensão.

INDICE

Resumo	Pág.	01
Abstract	Pág.	02
Contribuições da presente dissertação	Pág.	03
Sugestões para trabalhos futuros	Pág.	05
I - introdução		
Ia - Biofísica da Água	cap1-Pág.	01
Ib - Importância da Interação Teoria-Experimento em Biofísica	cap1-Pág.	03
Ic - Importância do Método de Monte Carlo como Instrumento de Pesquisa	cap1-Pág.	05
Id - Histórico do Desenvolvimento das Pesquisas	cap1-Pág.	07
Ie - Razões da Escolha do Ácido Violúrico para Modelagem Teórica	cap1-Pág.	09
Bibliografia	cap1-Pág.	11
Figuras	cap1-Pág.	13
II - Simulação de Monte Carlo e Potenciais		
IIa - Introdução sobre simulação de modelos em Biofísica Molecular	cap2-Pág.	01

IIb - Modelo de Eletropolo Polarizável (PE) .cap2-pág.	02
IIc - Modelo de Clementicap2-pág.	06
IId - Método de Monte Carlo.....cap2-pág.	13
Bibliografiacap2-pág.	16
Tabelascap2-pág.	18
Figurascap2-pág.	19
III - Análise Crítica do Modelo de Eletropolo Polarizável	
IIIa - Introduçãocap3-pág.	01
IIIb - Resumo do Cálculo de Jeziorskicap3-pág.	03
IIIc - Críticas e Possíveis Modificações do Modelo PEcap3-pág.	06
IIId - Considerações Finais sobre o Modelo PEcap3-pág.	09
Bibliografiacap3-pág.	11
Tabelascap3-pág.	13
Figurascap3-pág.	18
IV - Cálculo da Interação Ácido Violúrico-Água, Usando o Modelo de Eletropolo Polarizável	
IVa - Resumo do Cálculocap4-pág.	01

IVb - Cálculo da Orientação da Molécula de Água	cap4-pág.	04
IVc - Resultados Preliminares da Simulação de Monte Carlo	cap4-pág.	07
Bibliografia	cap4-pág.	10
Tabelas	cap4-pág.	11
Figuras	cap4-pág.	15
V - Desenvolvimento dos Potenciais "Ab Initio" para a Interação Ácido Violúrico-Água		
Va - Método de Obtenção dos Potenciais	cap5-pág.	01
Vb - Valores Obtidos	cap5-pág.	05
Vc - Potencial de Interação Água-Água	cap5-pág.	07
Bibliografia	cap5-pág.	09
Tabelas	cap5-pág.	10
Figuras	cap5-pág.	23
VI - Utilização do Potencial "Ab Initio" para a simulação da Estrutura da Água no Ácido Violúrico		
VIa - Introdução	cap6-pág.	01
Vib - Curvas de Isoenergia	cap6-pág.	03
Vic - Simulação de Monte Carlos	cap6-pág.	05

VI d - Discussão dos Dados da Simulação	cap 6 - pág.	07
VI e - Análise das Ligações de Hidrogênio Bifurcadas	cap 6 - pág.	10
Bibliografia	cap 6 - pág.	12
Tabelas	cap 6 - pág.	13
Figuras	cap 6 - pág.	16
VII - Resultados Preliminares da Interação Água-Lisozima		
VII a - Introdução	cap 7 - pág.	01
VII b - Resumo do que Foi Realizado	cap 7 - pág.	04
VII c - O que se Pretende Fazer	cap 7 - pág.	09
Bibliografia	cap 7 - pág.	10
Tabelas	cap 7 - pág.	11
Figuras	cap 7 - pág.	12
VIII - Conclusões Finais		
.....	cap 8 - pág.	01
Bibliografia	cap 8 - pág.	07

RESUMO

=====

A interação da molécula de água com ácido violúrico foi estudada usando-se dois métodos: o modelo de eletropolo polarizável e o método de Clementi.

O modelo de eletropolo polarizável considera a molécula de água como um ponto e a representa por uma expansão em multipolos. Polarização da molécula de água é permitida. Uma análise crítica deste modelo é aqui apresentada.

O método de Clementi consiste em desenvolver um potencial de interação da água com outra molécula através de cálculos "ab initio". O desenvolvimento deste potencial, para a interação água-ácido violúrico, é uma das contribuições originais apresentadas aqui.

Resultados da simulação de Monte Carlo, para a determinação da estrutura da molécula de água no cristal de ácido-violúrico monohidratado, foram obtidos pelos dois métodos. Os resultados, obtidos pelo modelo de eletropolo polarizável, concordam, razoavelmente, com aqueles obtidos por difração de raio-X e neutrons, mas ainda apresentam algumas limitações. Os resultados obtidos pelo método de Clementi apresentam uma concordância muito boa com os dados experimentais. Realizamos, também, utilizando cálculos "ab initio", uma análise energética das ligações de hidrogênio entre a molécula de água e a molécula de ácido violúrico.

Resultados Preliminares da interação água-lisozima são apresentados para que se possa entender como que potenciais desenvolvidos por Clementi, para a interação da água com amino ácidos e com formil trislicil amida, podem ser extrapolados para a interação da água com proteínas.

ABSTRACT

=====

The interaction of the water molecule with violuric acid was studied by using two methods: the polarizable electropole model and the method of Clementi.

The polarizable electropole model considers the water molecule as a point and represents it by an expansion in multipoles. Polarization of the water molecule is permissible. A critical analysis of this model is shown here.

The method of Clementi consists in developing a potential of the water interaction with another molecule by 'ab initio' calculation. The development of this potential is one of the original contributions presented here.

Results of Monte Carlo simulation for the determination of the water molecule structure in the violuric acid monohydrate crystal were obtained by the two methods. The results obtained by the polarizable electropole model agree reasonably with those obtained by X-ray and neutron diffraction, but it still have some limitations. The results obtained by the method of Clementi agree very well with the experimental data. Using 'ab initio' calculation we have also made an energetic analysis of the hydrogen bonds between the water molecule and violuric acid molecule.

Preliminary results of the interaction water-lysozyme are presented, so that we can understand how the potentials developed by Clementi for the water interaction with amino acids and with formyl trisleyl amide can be extrapolated to the interaction of water with proteins.

CONTRIBUICOES DA PRESENTE DISSERTACAO

=====

1. Simulação pelo Método de Monte Carlo, utilizando potenciais desenvolvidos pelo método de Clementi (cálculos "ab initio") e utilizando o modelo de eletropolo polarizável, da estrutura da molécula de água no cristal de ácido violúrico monohidratado (capítulos quatro, cinco e seis).
2. Discussão e análise do modelo de eletropolo polarizável, apresentando as suas limitações (principalmente quando efeitos quânticos tornam-se importantes) e algumas proposições de como aperfeiçoá-lo. Esta discussão e análise se baseia basicamente em resultados obtidos para o dímero de água (capítulo três).
3. Discussão comparativa do método de Clementi e do modelo de eletropolo polarizável para sistemas onde ocorram interação água-molécula, em particular água-ácido violúrico, mostrando a limitação do modelo de eletropolo polarizável no que tange à determinação dos parâmetros Lennard-Jones e, por outro lado, a enorme necessidade computacional para se desenvolver um potencial pelo método de Clementi (capítulo oito).
4. Análise energética das pontes de hidrogênio da interação água-ácido violúrico, levando à proposição de uma quinta ponte de hidrogênio, não considerada nos resultados experimentais (capítulos seis e oito).
5. Simulação pelo Método de Monte Carlo de parâmetros térmicos e dinâmicos (no equilíbrio), tal como o fator B de Debye-Waller. No caso do sistema água-ácido

violúrico conseguiu-se chegar à conclusão que 50 por cento do efeito de B (para a molécula de água) pode ser atribuído a efeitos puramente devidos a vibrações de moléculas rígidas (capítulos seis e oito).

6. Estudos Preliminares de sistemas mais complexos de macromoléculas, em particular da lisozima, a partir de experiência adquirida com os resultados do ácido violúrico (capítulo sete).
7. Implantação em São Carlos de um número considerável de programas, para que fosse possível a realização desta dissertação. Os programas estão descritos no capítulo oito e encontram-se à disposição, não apenas dos membros do Laboratório de Biofísica, mas de todos os interessados em áreas como a química quântica, física molecular, física atômica, física de estado sólido e mesmo de interessados em métodos estocásticos.

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

=====

1. Adotando um conjunto de potenciais desenvolvidos por Clementi, estudar a interação da molécula de água com macromoléculas de interesse biológico. Em particular, este trabalho, para a interação água-lisozima, já foi por nós começado (discussão detalhada de como realizar isto está apresentada no capítulo sete).
2. simulação de clatratos: sistemas estes que já possuem alguns resultados, ainda muito simples, de simulação pelo Método de Monte Carlo (TESTER, J.W.; RIVINS, R.L.; HERRICK, C.C. - Use of Monte Carlo in Calculating the Thermodynamic Properties of Water Clathrates. AIChE J., 18(6):1220-30, nov., 1972).
3. Utilizando o conjunto de potenciais, por nós adotado (desenvolvido por Clementi), verificar seu comportamento para diversas estruturas, onde já existam resultados cristalográficos muito bem definidos da estrutura da água.
4. Simulação do estado de hidrato, através da inclusão de um campo elétrico como uma perturbação dos potenciais de interação.
5. Implantação em São Carlos do método de Dinâmica Molecular, para complementar o método de Monte Carlo, quando desejarmos obter alguma propriedade dinâmica do sistema em estudo.

I - INTRODUÇÃO

=====

Ia - Biofísica da Água

A natureza física da água, sua importância nos processos da vida e sua ocorrência e distribuição na natureza levaram a um largo espectro de problemas a serem resolvidos pelos cientistas, para a compreensão do seu papel na natureza em geral e na vida em particular.

Sabe-se que a quantidade de água, existente nos seres vivos, varia de extremos de 96-97 por cento em alguns invertebrados marinhos, para menos de 50 por cento em algumas bactérias. O humano adulto contém entre 65-70 por cento de sua massa em água. Observando-se estes números nota-se a importância da água nos seres vivos e, apesar desta importância, devido à dificuldade dos problemas, o comportamento da água a nível molecular é ainda, de certa maneira, inexplorado.

A nível molecular, a água pode interagir consigo própria, para formar líquido e sólidos (gelo), através de suas propriedades elétricas e de interação quântica (Clementi, 1976), assim como também pode interagir com outras moléculas. Nos casos de interesse biológico estas moléculas podem ser pequenas (sais minerais, CO₂, lipídeos, etc) como também macromoléculas, que são essencialmente de três tipos: proteínas (como enzimas), polissacarídeos (como celulose) e polinucleotídeos (como DNA). (Clementi, 1980 e Franks, 1975).

A água interage com estas macromoléculas basicamente de dois modos (Mascarenhas, 1981) :

1. Interação hidrofílica - através de pontes de hidrogênio ou solvatação das cargas da macromolécula.
2. Interação hidrofóbica - a água, sendo repelida pela molécula, é obrigada a se auto-organizar formando, por exemplo, dodecaedros pentagonais e outras estruturas altamente organizadas.

Um problema de interesse, neste contexto, é a determinação da organização estrutural da molécula de água, ao redor das moléculas de interesse biológico. Para a determinação das configurações mais estáveis da molécula. A partir desta determinação, pode-se tentar começar a compreender a função destas moléculas dentro dos complexos sistemas biológicos e acreditamos ser esta interação forma-função a maneira mais eficiente de se atacar os problemas de biofísica a nível molecular e, por isto mesmo, é o procedimento por nós adotado.

Ib - Importância da Interação Teoria-Experimento em Biofísica

Há muitas maneiras de se atingir o objetivo principal, por nós almejado, que é a organização estrutural da água ao redor da biomolécula. Por exemplo, pode-se obter a organização estrutural das moléculas de água ao redor da biomolécula diretamente, através de experimentos, assim como podem ser obtidos modelos de tal organização através de cálculos teóricos (Clementi, 1980).

Como a obtenção de resultados experimentais da organização estrutural da água em sistemas complexos (como DNA ou outras macromoléculas) é bastante difícil, tanto por raio-X como por difração de neutrons (ao redor da temperatura ambiente), torna-se necessário utilizar uma estratégia teórico-experimental para se atingir este objetivo.

Esta estratégia consiste, basicamente, na proposição de modelos teóricos que nos permitam compará-los com resultados obtidos experimentalmente. Como isto é difícil de ser feito para macromoléculas, devemos adotar este procedimento para moléculas pequenas, para as quais é possível se obter resultados experimentais e compará-los com aqueles obtidos teoricamente, verificando, assim, a confiabilidade de nosso modelo teórico, o que nos permitirá eventualmente decidir a viabilidade de extrapolá-lo para sistemas maiores.

Nota-se portanto que, no desenvolvimento das pesquisas na biofísica molecular, em particular na interação de água com biomoléculas, torna-se imprescindível a interação teoria-experimento se quisermos, em um futuro próximo, obter uma compreensão

razoável para sistemas biológicos de interesse.

Ic - Importância do Método de Monte Carlo como Instrumento de Pesquisa (Schwarschild, 1982)

Com o desenvolvimento do computador nas últimas décadas, problemas, que são impossíveis de apresentar soluções exatas, passaram a ser resolvidos aproximadamente, através de simulações numéricas. Por exemplo, problemas importantes nos projetos de circuitos integrados, assim como problemas de mecânica estatística, podem ser resolvidos de maneira análoga através de métodos numéricos.

Uma maneira de atacar problemas de física estatística, de maneira aproximada, foi apresentada por Metropolis (Metropolis, 1953). Ele sugeriu um excelente algoritmo para atingir um estado de equilíbrio metaestável de uma coleção de átomos a uma dada temperatura. O algoritmo de Metropolis não só aceita passos randômicos que minimizam o Hamiltoniano mas, também, passos que o aumentam com uma probabilidade $\exp(-\Delta E/KT)$, onde K é a constante de Boltzman e T a temperatura absoluta. Uma descrição detalhada deste método está apresentada no segundo capítulo.

Quando este método é utilizado para simular fluidos (Barker, 1976), inicialmente o sistema em estudo é aquecido e, então, a temperatura é baixada vagarosamente. Para cada temperatura adotada, espera-se que o sistema atinja uma situação de equilíbrio, antes de se efetuar uma nova redução da mesma. Este procedimento simula um recozimento do sistema e ele é utilizado para simular um fluido real em seu verdadeiro estado fundamental, evitando assim que ele se encontre em uma situação metaestável qualquer.

Um procedimento, semelhante a este recozimento, é adotado para resolver problemas complexos de projetos de microeletrônica, de grande interesse prático. Neste caso, introduz-se um parâmetro de controle T , tal que KT tenha a mesma unidade que uma função objetivo E . Não é aqui apresentada uma discussão profunda sobre o motivo desta analogia, mas ela está baseada no fato de que ambos os casos apresentam um problema de otimização combinatória extensa.

O método de Monte Carlo vem sendo usado para atacar, além de fluidos, uma larga gama de problemas de interesse físico tais como cristais líquidos, física de partículas, física de estado sólido, interação da água com biomoléculas (Clementi, 1980) e muitos outros. Simulação da interação da água com moléculas de interesse biológico, em particular o ácido violúrico, é tema central desta dissertação.

Id - Histórico do Desenvolvimento das Pesquisas

A interação da água com moléculas biológicas sempre foi uma das metas principais do grupo de biofísica de São Carlos.

Esta linha de pesquisa foi iniciada pelo Professor Mascarenhas, junto com Sérgio Celaschi (Celaschi, 1977) e Sylvio Quezados (Quezados, 1978), usando o fato que certas substâncias podem armazenar polarização elétrica por um longo tempo (são os eletretos). Conseguiu-se provar que o efeito de eletreto aparece universalmente em todos os biopolímeros como as proteínas, polinucleotídeos e polissacarídeos, conduzindo ao conceito de bioeletreto (Mascarenhas, 1980).

Quando aquecemos uma amostra no estado de eletreto obtemos uma corrente elétrica dada pela equação

$$I = - A \frac{dP}{dT} \quad \text{onde} \quad I - \text{corrente elétrica}$$

P - polarização

T - temperatura absoluta

Esta corrente é conhecida por corrente termoestimulada (CTE) e mostrou-se que os picos de CTE dependem da hidratação e, portanto, os dipolos de água ligados em biomoléculas podem ser estudados por este tipo de espectroscopia elétrica.

Uma outra técnica, muito simples, e uma das primeiras a ser aplicada para o estudo da interação água-biomolécula é a chamada isoterma de hidratação (Pethig, 1979).

Coloca-se uma substância em uma câmara de pressão de vapor conhecida e temperatura constante. Para diferentes pressões e temperaturas, estuda-se o aumento ou diminuição do peso da substância (hidratação) com algum método gravimétrico. Esta linha de pesquisa é desenvolvida atualmente, em nosso laboratório, por Roberto Pires utilizando uma microbalança de quartzo (Pires, 1981).

Quando foi atingido este estágio de pesquisa observamos, em nosso grupo, a necessidade de um embasamento teórico desta interação água-molécula biológica. O início desta nova linha de pesquisa foi realizado pelo Professor Mascarenhas, quando esteve em Londres (1978), no grupo de Finney e Barnes, sendo por mim continuada. O meu trabalho teve, inicialmente, uma interação com o mesmo grupo de Londres (1981), sendo continuado junto ao grupo de biofísica teórica da Universidade Nacional Autónoma do México (1981) e, finalmente, uma interação, que considero fundamental para nosso grupo, junto ao grupo do Professor Clementi da IBM de Poughkeepsie (1982).

Todo este trabalho por mim desenvolvido será o tema desta dissertação:

1. Interação com o grupo Finney-Barnes - capítulo III.
2. Interação com o grupo de biofísica da UNAM, em particular com o Doutor Ivan Ortega - capítulo IV
3. Interação com o grupo de Clementi - capítulos V, VI, e VII.

Ie - Razões da Escolha do Ácido Violúrico para Modelagem Teórica

Usando a estratégia proposta no item I-b, quando escolhemos o problema que deveríamos atacar em São Carlos, decidimo-nos pelo ácido violúrico monohidratado (figura I-1).

O ácido violúrico monohidratado ou ácido 5-hidroxiiminobarbitúrico pertence a uma série de derivados do ácido barbitúrico. Os barbitúricos têm importância biológica como anti-convulsivantes e em outras aplicações neurológicas. O problema foi proposto pela Professora Yvone Mascarenhas e acreditamos ser um exemplo ideal para ser estudado, pelos seguintes motivos :

1. trata-se de uma molécula relativamente pequena, permitindo, assim, a aplicação de métodos quânticos;
2. estrutura planar com pequeno número de moléculas de água por cela unitária (4);
3. possui estrutura resolvida tanto por raio-X como por difração de neutrons (Craven e Mascarenhas, 1964);
4. presença da ligação de hidrogênio bifurcada.

O cristal do ácido violúrico monohidratado perdeuterado (C₄D₄N₃O₄.D₂O) é ortorrômbico, grupo espacial Cmc21 com parâmetros de rede $a = 6.217 \text{ \AA}$, $b = 14.373 \text{ \AA}$ e $c = 7.516 \text{ \AA}$ e possui quatro moléculas por cela unitária. O grupo espacial requer que todos os átomos se encontrem nos planos $x = 0, 1/2$, em uma estrutura com pontes de hidrogênio muito compactas. As distâncias e ângulos das

ligações encontram-se dentro de um erro quadrático médio de 0.008 Å e 0.6 graus respectivamente. Esta estrutura apresenta uma ponte de hidrogênio bifurcada entre o hidrogênio H(W2) da água e os oxigênios O(5) e O(6) do ácido violúrico e entre o hidrogênio H(W1) e os oxigênios O(4) e O(6) (conforme podemos observar na figura I-1), o que torna o problema mais interessante.

A figura I-1 apresenta um plano da estrutura do ácido violúrico. Apresentamos o esquema de apenas um plano, uma vez que o grupo espacial, conforme já descrevemos, requer que os átomos se encontrem em planos. Os planos distam 3.108 Å um do outro, distância suficiente para garantirmos que todas as ligações covalentes e pontes de hidrogênio ocorram sempre no mesmo plano.

Na presente dissertação realizamos as seguintes investigações:

1. crítica do modelo de eletropolo polarizável (PE), modelo proposto por Barnes e Finney (Barnes, 1978), capítulo III;
2. modelagem da estrutura da água no ácido violúrico utilizando o modelo de eletropolo polarizável, capítulo IV;
3. modelagem da estrutura da água no ácido violúrico utilizando o método proposto por Clementi (Clementi, 1980), capítulos V e VI;
4. resultados preliminares da interação água-lisozima, utilizando o método de Clementi, capítulo VII;

Bibliografia

1. CLEMENTI, E. - Determination of Liquid Water Structure. Berlin, Springer Verlag, 1976. (Lectures Notes in Chemistry, V.2)
2. CLEMENTI, E. - Computational Aspects for Large Chemical Systems. Berlin, Springer Verlag, 1980. (Lectures Notes in Chemistry, V.19)
3. FRANKS, F. - Water: a Comprehensive Treatise. Plenum Press, V.1-5, 1975.
4. MASCARENHAS, S. - Biofísica da Água. SPECTRUM-J. Bras. Ci., 1(1):1-6, 1981.
5. SCHWARZCHILD, B.M. - Statistical Mechanics Algorithm for Monte Carlo Simulation. Physics Today, 35(5):17-19, May, 1982.
6. METROPOLIS, N. et al - Equation of State Calculations by Fast Computing Machines. J.Chem.Phys., 21(6):1087-92, Jun., 1953.
7. BARKER, J.A. and HENDERSON, D. - What is "Liquid"? Rev.Mod.Phys., 48(4), Oct., 1976.
8. CELASCHI, S. and MASCARENHAS, S. - Thermal Stimulated Pressure and Current. Studies of Bound-Water in Lysozyme. Biophys.J., 20:273, Nov., 1977.
9. QUEZADO, S. and MASCARENHAS, S. - On the Problem of Ferroelectricity and Non-Linearity of DNA and RNA. In: POLYMER CONFERENCE AT THE INSTITUTE OF PHYSICS AND CHEMICAL RESEARCH OF JAPAN, 14 Oct. 1978.

10. MASCARENHAS, S. - Bioelectrets: electrets in biomaterials and biopolymers. In: Electrets, edited by G.M. Sessler. Berlin, Springer Verlag, 1980. (Topics in Applied Physics, V.33)
11. PETHIG, R. - Dielectric and Electronic Properties of Biological Materials. Wiley, 1979.
12. PIRES, R.C.; MASCARENHAS, S.; ONUCHIC, J.N. - Hidration Isotherm, Thermal Stimulated Pressure and Currents in Insulin. In: INTERNATIONAL BIOPHYSICS CONGRESS, 7, AND PAN-AMERICAN BIOCHEMISTRY CONGRESS, 3, Mexico-City, Aug 23-9, 1981. p.155.
13. CRAVEN, B.M. and MASCARENHAS, Y. - The Crystal Structure of Perdeuterated Violuric Acid Monohydrate: The X-ray Diffraction Analysis. Acta Cryst., 12:407-414, 1964.
14. CRAVEN, B.M. and TAKEY, W.J. - The Crystal Structure of Perdeuterated Violuric Acid Monohydrate: The Neutron Diffraction Analysis. Acta Cryst., 12:415-420, 1964.
15. BARNES, P. - Machine Simulation of Water In: Progress in Liquid Physics, edited by C.A. Croxton. Wiley, Chichester, 1978.

FIGURA I-1

FIGURA I-1 - Um plano do cristal do ácido violúrico monohidratado.

II - SIMULAÇÃO DE MONTE CARLO E POTENCIAIS

=====

IIa - Introdução sobre Simulação de Modelos em Biofísica Molecular

Para se determinar a estrutura conformacional das moléculas de água ao redor da biomolécula, utilizam-se técnicas de simulações numéricas. Estas técnicas consistem, basicamente, de :

1. Determinação dos potenciais de interesse para a simulação; no nosso caso, potenciais tipo água-biomolécula, água-água, água-íons, etc.
2. Utilização destes potenciais para determinar as propriedades termodinâmicas do sistema em estudo, através de simulação numérica. No nosso caso, para se calcular o valor esperado destas propriedades, utiliza-se o método de Monte Carlo que é baseado no algoritmo de Metropolis (Metropolis, 1953).

IIb - Modelo do Eletropolo Polarizável (PE)

Qualquer distribuição de cargas pode ser representada normalmente por uma expansão em multipolos. No modelo de eletropolo polarizável (PE), Barnes descreveu cada átomo em termos de uma carga, dipolo, quadrupolo e termos "non-bonded" (6-12 Lennard-Jones). A importância deste modelo está em tentar incluir efeitos cooperativos através do formalismo de dipolo polarizável, isto é, os dipolos iniciais ou permanentes são polarizados pelo campo das moléculas (átomos) que o cercam. Um procedimento cíclico é utilizado para se obter um conjunto auto-consistente de dipolos. A energia total de cada conformação é a soma dos termos eletrostático, Lennard-Jones e polarização.

Este modelo foi utilizado inicialmente para interação água-água (Barnes, 1978 e 1979). A molécula de água, em vez de ser tratada como sendo um conjunto de três átomos, é representada por um modelo pontual com um dipolo permanente. A posição da molécula de água é a do seu oxigênio.

A interação eletrostática entre as moléculas de água é representada por suas expansões em série de eletropolos. Os eletropolos permanentes, valores apresentados na tabela II-1, referem-se aos eixos apresentados na figura II-1 e são aqueles dados por Glaeser e Coulson (Glaeser, 1965).

Um procedimento iterativo é utilizado para se calcular o incremento do momento de dipolo $\vec{\Delta u}$ de cada molécula de água, sendo este valor adicionado a seu dipolo permanente $\vec{u}_0$. Para uma determinada molécula de água em um arranjo molecular, o campo resultante $\vec{F}$, devido às moléculas (átomos) que a circundam, é calculado de modo que o novo momento de dipolo seja

$$(II-1) \quad \vec{u} = \vec{u}_0 + \Delta \vec{u}$$

$$\text{onde } \Delta \vec{u} = |\alpha| \times \vec{F}$$

e $|\alpha|$ é a matriz de polarização.

O método é iterativo pois o campo, ao redor de cada molécula, depende do momento de dipolo das demais moléculas. A energia eletrostática, usando-se o modelo de expansão em eletropolos, terá portanto a seguinte forma:

$$(II-2) \quad U_e = 1/2 \sum_{i,J} \sum_{a,b} q_i V_J + u_i^a F_J^a + 1/2 Q_i^{ab} F_J'^b + \dots$$

i, J
 a, b
 $i \neq J$

onde i, J referem-se às diferentes moléculas e a, b aos eixos X, Y e Z de cada molécula (fig. II-1)

O primeiro termo representa a interação carga q -potencial V que é nulo na interação água-água, pois a molécula de água possui carga total nula. O termo $u.F$ representa a interação dipolo-campo elétrico e o termo $1/2 Q.F'$ a interação quadrupolo-gradiente do campo elétrico. Os termos de maior ordem são desprezados podendo, entretanto, ser incluídos caso desejado.

Neste modelo, portanto, a energia total terá a seguinte forma:

$$(II-3) \quad U = U_e + U_P + U_{IJ}$$

onde o termo de polarização U_P é dado por

$$U_P = \sum_i \sum_a 1/2 (u_i^a - u_{oi}^a)^2 / \alpha^{aa}$$

O termo de Lennard-Jones (U_{LJ}) é utilizado para conter as componentes "repulsiva e atrativa de van der Waals-London". Deve-se tomar bastante cuidado com esta descrição de Barnes para o termo U_{LJ}, uma vez que os parâmetros utilizados para calculá-lo são parâmetros ajustados. Uma discussão mais detalhada sobre este ponto será apresentada no terceiro capítulo. A expressão analítica de U_{LJ} é dada por

$$(II-4) \quad U_{LJ} = \sum_{\substack{i,j \\ i \neq j}} 4\epsilon \left[\left(\frac{\sigma}{R_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{R_{ij}} \right)^6 \right]$$

onde R_{ij} é a distância entre duas moléculas i e j quaisquer.

A tabela II-1 contém todos os parâmetros deste modelo para as moléculas de água. Exceto para os parâmetros de Lennard-Jones, os quais são ajustados com a posição de equilíbrio do dímero de água (Duke 1977), os valores usados são obtidos de trabalhos teóricos e/ou experimentais (Glaeser, 1965) e não são parâmetros ajustados.

Este formalismo do modelo de eletropolo polarizável pode ser extrapolado para descrever um potencial de interação molécula-solvente. As cargas, para cada átomo da molécula, são calculadas através de uma análise de Mulliken, usando métodos "ab initio" ou semi-empíricos (Complete Neglect of Differential Overlap (CNDO) por exemplo). Polarizabilidade para grupos atômicos pode ser incluída sendo que, para diversos grupos orgânicos, ela já existe na literatura (Pethis, 1979) e, com algum critério, pode ser transferível para outros grupos semelhantes. O

problema essencial consiste em se encontrar o conjunto de parâmetros para os termos de energia 6-12 Lennard-Jones. Maiores discussões sobre este conjunto de parâmetros serão apresentadas nos terceiro e quarto capítulos.

Trabalho, no sentido de extrapolar este formalismo para interação água - aminoácido, já foi iniciado pelo grupo de Barnes e Finney (Goodfellow, 1981).

IIc - Modelo de Clementi

Neste item será discutido o método de Clementi para calcular o potencial de interação entre uma molécula de água e uma outra molécula qualquer (Clementi, 1976 e 1980).

O procedimento inicial, quando se deseja calcular um potencial de interação entre uma molécula M qualquer e uma molécula de água, é calcular diversas interações entre a molécula M e a molécula de água em diferentes configurações. Estes cálculos são sempre "ab initio" e podem ser realizados em diferentes aproximações, dependendo da precisão que se deseja atingir. Basicamente, pode-se dividir estas aproximações em quatro grupos :

1. Orbitais Moleculares-Combinação linear de orbitais atômicos-campo auto consistente (SCF-LCAO-MO) - utilizando uma base mínima para o Hartree-Fock (HF).
2. Orbitais Moleculares-Combinação linear de orbitais atômicos-campo auto consistente (SCF-LCAO-MO) - utilizando uma base estendida para o Hartree-Fock (HF), isto é, obtendo-se o limite Hartree-Fock.
3. Utilizar Hartree-Fock mais perturbação.
4. Utilizar o método de Interação de Configurações.

Portanto, o método utilizado para cálculo "ab initio" é sempre o método de Roothaan Hartree-Fock e maiores detalhes sobre o mesmo podem ser encontrados nos livros-texto de química quântica e física molecular. Nos

itens 3 e 4 são colocadas correções a este método, uma vez que a solução HF não apresenta correlação entre elétrons de spins antiparalelos. No item 3, a correção é feita utilizando um potencial perturbativo tipo Wisner para que a correlação seja incluída (Clementi, 1976), enquanto que, no item 4, ela é incluída fazendo com que a função de onda não seja apenas um determinante de Slater, como no Hartree-Fock, mas uma combinação linear de vários determinantes (Clementi, 1976).

Os orbitais moleculares serão calculados como uma combinação linear dos orbitais atômicos e os coeficientes desta combinação é que são obtidos pelo método de HF. Os orbitais atômicos são otimizados calculando-se os átomos isoladamente e as funções, que os representam, estão centradas no núcleo de cada átomo. Portanto, os orbitais moleculares (SCF-LCAO-OM) podem ser representados pela seguinte expressão

$$(II-5) \quad \Phi_i = \sum_j C_{ij} \cdot \chi_j$$

onde Φ_i são os orbitais moleculares

χ_j são os orbitais atômicos

C_{ij} são os coeficientes obtidos por HF

A energia de interação entre a molécula M e a molécula de água será, então, calculada pela seguinte equação

$$(II-6) \quad I(M,W) = E(M,W) - E(M) - E(W)$$

onde $E(M)$ e $E(W)$ são as energias da molécula M e da molécula de água isoladamente.

Quando se calcula $E(M)$, deve-se calcular dois parâmetros para cada átomo da molécula, que são fundamentais dentro do procedimento proposto por Clementi:

1. Carga Líquida (NCH)
2. Estado de Valência de Orbital Molecular (MOVS).

A NCH, para cada átomo, é calculada usando a análise populacional proposta por Mulliken e que, para um determinado átomo A de M, é calculada usando o seguinte procedimento:

1. Para cada orbital molecular deve-se fazer o seguinte cálculo:

$$(II-7) \quad q_A^i = \sum_{P, Q, CA} N_i \cdot C_{iP} \cdot C_{iQ} \cdot S_{PQ} + 1/2 \sum_{PCA, r \neq A} N_i \cdot C_{iP} \cdot C_{ir} \cdot S_{Pr}$$

$$\text{onde } S_{ij} = \langle X_i | X_j \rangle$$

N_i = número de elétrons no orbital Q_i

2. Efetua-se então a soma sobre todos os orbitais moleculares e retira-se o número atômico de cada átomo

$$(II-8) \quad \text{NCH de A} = \left(\sum_i q_A^i \right) - Z_A$$

A NCH representa o ganho ou a perda da população eletrônica de cada átomo.

Para se calcular o MOVS, deve-se utilizar a análise de energia de ligação proposta por Clementi (REA). Para simplificar a notação, uma base de funções χ_A , centradas no átomo A, será representada apenas por A. O critério utilizado é o seguinte :

1. Elementos de matriz cinéticos : os elementos $\langle A | \nabla | A \rangle$ são considerados para a energia $E(A)$ e os elementos $\langle A | \nabla | B \rangle$ para a energia $E(A,B)$;
2. Elementos de matriz núcleo-elétron : os elementos $\langle A | Z_A / r | A \rangle$ e $\langle A | Z_B / r | A \rangle$ são considerados para a energia $E(A)$ e os elementos $\langle A | Z_A / r | B \rangle$, $\langle A | Z_B / r | B \rangle$ e $\langle A | Z_C / r | B \rangle$ para a energia $E(A,B)$;
3. Elementos de matriz elétron-elétron : os elementos $\langle AA | 1/r | AA \rangle$ são considerados para a energia $E(A)$ e os elementos $\langle AA | 1/r | AB \rangle$, $\langle AA | 1/r | BB \rangle$ e $\langle AB | 1/r | AB \rangle$ para a energia $E(A,B)$. Os elementos de quatro centros são distribuídos entre $E(A,C)$, $E(A,D)$, $E(B,C)$ e $E(B,D)$, de acordo com a seguinte relação de transformação (usada também para três centros) :

$$\langle AB | 1/r | CD \rangle = W(\langle AA | 1/r | CC \rangle + \langle AA | 1/r | DD \rangle + \langle BB | 1/r | CC \rangle + \langle BB | 1/r | DD \rangle)$$

onde o peso W é obtido da expressão :

$$1/W = (\langle AA | 1/r | CC \rangle + \langle AA | 1/r | DD \rangle + \langle BB | 1/r | CC \rangle + \langle BB | 1/r | DD \rangle) / \langle AB | 1/r | CD \rangle$$

4. repulsão núcleo-núcleo ($Z_A Z_B / R$) é, logicamente, associada a $E(A,B)$.

Utilizando este formalismo, o MOVS de um átomo A na molécula M é dado por

$$(II-9) \quad \text{MOVS de A} = E(A) - E(A)\text{sozinho}$$

O MOVS está associado com a variação necessária de energia de um átomo, para que ele se hibridize durante as ligações moleculares. Ambos, NCH e MOVS, estão relacionados com o estado de hibridização de um átomo em uma molécula.

O número de interações, calculadas entre a molécula M e a molécula de água, deve ser tal que represente relativamente bem as regiões repulsivas, os mínimos de energia e as interações de longo alcance.

Estes valores $I(M,W)$ calculados devem ser ajustados em uma expressão analítica. A complexidade desta expressão depende de quão precisos sejam os cálculos das energias de interação. No caso da interação água-água, em que os cálculos foram feitos utilizando interação de configurações, utilizou-se uma expressão complicadíssima (Clementi, 1976) enquanto que na interação água-aminoácido, caso em que os cálculos foram apenas um HF de base mínima, utilizou-se uma expressão simples da forma da expressão II-10 (Clementi, 1977).

Antes de se iniciar o processo de ajuste, os átomos da molécula M devem ser separados em "classes", que dependem do seu número atômico, MOVS e NCH. Associa-se a uma classe um conjunto de átomos que, além do mesmo número atômico, possuam valores de NCH e MOVS muito próximos. Conforme se poderá observar, no quinto capítulo, átomos de mesma hibridização possuirão classes iguais. Este procedimento de divisão de átomos, em um conjunto de classes, é fundamental caso se queira, de alguma maneira,

transferir estes potenciais para outras moléculas.

No nosso caso, ácido violúrico-água, como os cálculos são HF com base mínima, a expressão utilizada para ajustar o potencial é muito simples :

$$(II-10) \quad I(M,W) = \sum_{i,j} - \frac{A_{ij}^{ab}}{R_{ij}^6} + \frac{B_{ij}^{ab}}{R_{ij}^{12}} + \frac{C_{ij}^{ab} \cdot q_i \cdot q_j}{R_{ij}}$$

onde A_{ij} , B_{ij} e C_{ij} são as constantes que devem ser ajustadas,

R_{ij} é a distância entre um átomo i de M e um átomo j da água,

q_i e q_j são as Nch de i e j ,

a e b são os índices que identificam as classes dos átomos i e j respectivamente. As constantes ajustadas devem ser as mesmas se os átomos pertencem à mesma classe.

As constantes A , B e C são interdependentes; portanto, caso se queira que elas tenham algum significado físico, é necessário que se obedeca a algum critério durante o ajuste. O critério, normalmente adotado, é o seguinte:

1. Coloca-se o valor de $C=1$ e otimiza-se A e B .
2. Otimiza-se então o valor de C .

Os valores finais dos parâmetros apresentarão os valores de C próximos da unidade e isto já deve ser esperado, uma vez que o termo $1/R$ toma conta da interação

eletrostática em primeira ordem, que pode ser atrativa ou repulsiva, dependendo dos valores das NCHs. O termo $1/R^2$ cuidará da parte repulsiva da energia que depende, fundamentalmente, da sobreposição das funções de onda das moléculas M e água. O termo $1/R^6$ cuidará das demais interações atrativas (aquelas não incluídas no termo $1/R$). É preciso tomar muito cuidado na interpretação de A e B, uma vez que eles continuam a ser parâmetros totalmente interdependentes.

Maiores detalhes, sobre este método, podem ser encontrados no quinto capítulo, onde eles serão utilizados para desenvolver o potencial de interação água-ácido violúrico. Procedimento semelhante pode ser usado para calcular potenciais de interação água-ions, ions-molécula, etc.

IIId - Método de Monte Carlo (Metropolis, 1953)

Para se calcular as propriedades termodinâmicas de um determinado sistema, em temperatura constante, isto é, em um banho térmico, deve-se usar um ensemble canônico. O método de Monte Carlo é um método estatístico, que nos permite simular o valor esperado de uma determinada propriedade em sistemas onde é impossível se calcular a função de partição.

Descreve-se, a seguir, como funciona o método de Monte Carlo para um sistema de N partículas :

1. Colocam-se as N partículas em uma configuração qualquer.
2. Move-se, então, cada uma das partículas, uma de cada vez, da seguinte maneira :

$$x \rightarrow x + r1.a$$

$$y \rightarrow y + r2.a$$

$$z \rightarrow z + r3.a$$

onde $r1$, $r2$ e $r3$ são números aleatórios entre -0.5 e 0.5 . Portanto, depois do movimento, cada partícula pode se situar em qualquer lugar de um cubo de lado a , com igual probabilidade. O valor a deve ser escolhido com muito cuidado; se for muito grande, os movimentos, em sua maioria, serão proibidos e, se for muito pequeno, a configuração do sistema muda muito vagarosamente. Nos dois casos, precisaremos de um número muito grande de movimentos durante a simulação.

3. De uma maneira similar, pode-se incluir uma rotação aleatória. Na simulação de sistemas água-molécula biológica, normalmente só as moléculas de água podem se mover ou executar rotação.
4. Calcula-se, então, a variação de energia ΔE do sistema, causada pelo movimento.
5. Se $\Delta E < 0$, a partícula se move para a nova posição.
6. Se $\Delta E > 0$, a partícula se move para a nova posição, com uma probabilidade $\exp(-\Delta E/KT)$, isto é, toma-se um número aleatório r_4 entre 0 e 1; se $r_4 < \exp(-\Delta E/KT)$, a partícula se move para a nova posição; caso contrário, ela permanece na posição antiga (K é a constante de Boltzman e T temperatura absoluta).
7. O valor esperado de uma propriedade de interesse F é calculado, então, da seguinte maneira

$$(II-11) \quad F = (1/M) \sum_{j=1}^M F_j$$

onde F_j é o valor da propriedade F do sistema, depois do j -ésimo movimento.

Supondo-se agora, por simplicidade, que haja somente um número finito de estados para o sistema, deve-se mostrar que, depois de "muitos" movimentos, o sistema tende a uma distribuição

$$(II-12) \quad N_r \propto \exp(-E_r/KT)$$

onde N_r é o número de vezes que o sistema estará no estado

r durante a simulação.

Estando em um estado s, se a Probabilidade "a priori" (antes de se considerar a Probabilidade final que depende de E) do sistema ser levado a um estado r é P_{sr} , é claro que $P_{sr} = P_{rs}$. Supondo $E_r > E_s$, o número de movimentos do sistema de r para s é $N_r \cdot P_{rs}$ e o número de movimentos de s para r é $N_s \cdot P_{sr} \cdot \exp(-(E_r - E_s)/KT)$. Portanto o fluxo final do sistema de s para r é $P_{rs} \cdot (N_s \cdot \exp(-(E_r - E_s)/KT) - N_r)$. Assim, nota-se que se

$$(II-13) \quad N_r/N_s > \exp(-E_r/KT)/\exp(-E_s/KT)$$

tem-se um número maior de movimentos do estado r para s do que de s para r, sendo que, depois de muitos movimentos do sistema, este número deve ser o mesmo. Entretanto, o método é ergódico, isto é, qualquer estado pode ser atingido de outro. Estes dois fatos mostram que este método deve tender a simular o ensemble canônico depois de um número grande de movimentos.

Observações importantes :

1. Tomar cuidado para que não se caia em uma posição de equilíbrio metaestável e lá se permaneça durante toda a simulação.
2. Depois de um movimento proibido, é lógico que a configuração inicial deve ser contada novamente.
3. Os argumentos acima não especificam quão rapidamente a distribuição canônica é aproximada.
4. Antes de se começar a fazer qualquer cálculo de valor esperado, deve-se esperar a estabilização térmica do sistema, isto é, esperar que a energia do sistema seja minimizada e oscile em torno de um valor médio.

Bibliografia

1. METROPOLIS, N. et al - Equation of State Calculations by Fast Computing Machines. J.Chem.Phys., 21(6):1087-1092, Jun., 1953.
2. BARNES, P. - Machine Simulation of Water. In: Progress in Liquid Physics, edited by C.A.Croxton. Wiley, Chichester, 1978.
3. BARNES, P. et al - Cooperatives Effects in Simulated Water. Nature, 282:459-464, Nov., 1979.
4. GLAESER, R.M. and COULSON, C.A., Trans. Faraday Soc., 61:389, 1965.
5. DYKE, T.R. - The Structure of Water Dimer from Molecular Beam Electric Resonance Spectroscopy. J.Chem.Phys., 66(2):498-510, Jan., 1977.
6. PETHIG, R. - Dielectric and Electronic Properties of Biological Materials. Wiley, 1979.
7. GOODFELLOW, J.M. et al - Monte Carlo Computer Simulation of Water-Amino Acid Interactions. 1981 (submetido a publicação).
8. CLEMENTI, E. - Determination of Liquid Water Structure. Berlin, Springer Verlag, 1976. (Lectures Notes in Chemistry, V.2)
9. CLEMENTI, E. - Computational Aspects for Large Chemical Systems. Berlin, Springer Verlag, 1980. (Lectures Notes in Chemistry, V.19)

10. CLEMENTI, E. et al - CI Study of the Water Dimer Potential Surface. J.Chem.Phys., 64(4):1351-1361, Feb., 1976.
11. CLEMENTI, E. et al - Analytical Potentials from "ab Initio" Computations for the Interaction between Biomolecules. I. Water with Amino Acids. J.Am.Chem.Soc., 99(17):5531-5545, Aug., 1977.

```

*****
*                               *
*                               *
*                               *
* momento de dipolo           * 0.0 * 0.0 * 1.855 *
* (uo) em Debye               *      *      *      *
*                               *      *      *      *
*****
*                               *
*                               *
* matriz de polariza-         * 1.444 * 0.0 * 0.0 *
* ção                         * 0.0 * 1.444 * 0.0 *
*  $\alpha_{ij}$  em Å3          * 0.0 * 0.0 * 1.444 *
*                               *      *      *      *
*****
*                               *
*                               *
* momento de quadrupolo       * -7.482 * 0.0 * 0.0 *
*                               * 0.0 * -4.180 * 0.0 *
*  $Q_{ij}$  em Debye.Å2        * 0.0 * 0.0 * -5.939 *
*                               *      *      *      *
*****
*                               *
* Parâmetros de               *  $\sigma = 3.024$  Å *
* Lennard-Jones               *  $\epsilon = 0.764$  Kcal/Mol *
*                               *      *      *
*****

```

TABELA II-1 - Parâmetros usados para o modelo PE para molécula de água. Eixos são aqueles definidos por Glaeser e Coulson (Glaeser, 1965)

FIGURA II-1

FIGURA II-1 - Eixos adotados para a molécula de água no modelo de eletrodolo polarizável. O eixo Z bissecta as duas direcções OH e o eixo Y, também, se encontra no plano HOH.

III -ANALISE CRITICA DO MODELO

=====

DE ELETROPOLO POLARIZAVEL

=====

(Onuchic, 1982)

IIIa - Introdução

Neste capítulo, nós comparamos o modelo de eletropolo polarizável (PE) com os resultados obtidos por Jeziorski e Hemert para o dímero de água, usando cálculos "ab initio" (Jeziorski, 1976). Os cálculos desenvolvidos por Jeziorski e Hemert são, atualmente, os mais precisos para o dímero de água e, portanto, nós os usamos como teste-comparação para o modelo PE.

O modelo PE, descrito no segundo capítulo, tem sido usado para descrever água líquida e gelo (Barnes, 1978, 1979 e 1980) e interação de água com amino ácidos (Goodfellow, 1981). O fundamento deste modelo está em que o momento de dipolo médio da água, em fases condensadas ordenadas ou água líquida, tem um grande aumento (40-60 por cento) em relação à molécula de água isoladamente; assim, toda a energia cooperativa (não par-aditiva) da ligação de hidrogênio água-água deve ser incluída, através do momento de dipolo variável na presença do campo local (descrição detalhada do modelo PE encontra-se no segundo capítulo).

O termo da energia de Lennard-Jones do modelo PE (expressão II-4) pode, também, ser escrito na forma

$$(III-1) \quad E_{IJ} = \sum_{\substack{i \in J \\ i \neq J}} - \frac{C}{R_{iJ}^6} + \frac{A}{R_{iJ}^{12}}$$

onde os valores de C e A são, respectivamente, $2.337 \cdot 10^3$
 $\text{Kcal} \cdot \text{\AA}^6/\text{mol}$ e $1.787 \cdot 10^6 \text{ Kcal} \cdot \text{\AA}^{12}/\text{mol}$.

IIIb - Resumo do Cálculo de Jeziorski

Para o dímero de água, a Hamiltoniana total de Born-Oppenheimer pode ser dividida, da maneira mais natural, em três termos

$$(III-2) \quad H = H_a + H_b + V_{ab}$$

onde H_a e H_b são as Hamiltonianas das moléculas livres e V_{ab} é o operador de interação.

Tratando-se $H_a + H_b$ como um operador não perturbado e V_{ab} como perturbação, a energia de interação pode ser calculada, exatamente, como a soma de um número infinito de correções de perturbação. Como uma primeira aproximação, pode-se assumir que os efeitos de terceira e maior ordem sejam desprezados e a energia de interação pode, então, ser representada por

$$(III-3) \quad E_{int} = E(1) + E_{pol}(2)$$

onde $E(1)$ é a energia de primeira ordem, incluindo o termo de troca, e $E_{pol}(2)$ é a energia de segunda ordem de polarização (não se considera o termo de troca de segunda ordem).

O Hamiltoniano exato da molécula A pode ser escrito assim

$$(III-4) \quad H_a = F_a + W_a$$

onde F_a é o operador que apresenta, como solução, o determinante de HF de camada fechada ψ_a^0 e W_a é o operador de dois elétrons, que leva em conta a correlação eletrônica dentro da molécula A.

No cálculo da energia de interação do dímero de água, em primeira aproximação, as energias internas de correlação, isto é, as correções produzidas pelos operadores W_a e W_b , podem ser desprezadas e, portanto, adota-se ψ_0^a e ψ_0^b como sendo as funções de onda dos estados fundamentais de H_a e H_b .

Os dois termos de III-3 são calculados, então, da seguinte maneira

$$(III-5) \quad E(1) = \frac{\langle \psi_0^a \psi_0^b | A V_{ab} | \psi_0^a \psi_0^b \rangle}{\langle \psi_0^a \psi_0^b | A | \psi_0^a \psi_0^b \rangle}$$

onde A é o operador anti-simetrizador para todos os elétrons da supermolécula AB .

Portanto, $E(1)$ pode ser separado em duas partes : uma eletrostática comum e outra de troca.

$$\begin{aligned} E_{pol}(2) = & \sum_{k \neq 0} \frac{|\langle \psi_0^a \psi_0^b | V_{ab} | \psi_k^a \psi_0^b \rangle|^2}{E_0^a - E_k^a} + \\ & + \sum_{l \neq 0} \frac{|\langle \psi_0^a \psi_0^b | V_{ab} | \psi_0^a \psi_l^b \rangle|^2}{E_0^b - E_l^b} + \\ & + \sum_{l \neq 0} \sum_{k \neq 0} \frac{|\langle \psi_0^a \psi_0^b | V_{ab} | \psi_k^a \psi_l^b \rangle|^2}{E_0^a + E_0^b - E_k^a - E_l^b} \end{aligned}$$

A soma dos dois primeiros termos de $E_{pol}(2)$, denotada por $E_{ind}(2)$, corresponde à interação de indução e é interpretada como um efeito de polarização mútua das moléculas pelos seus campos eletrostáticos e o terceiro termo corresponde à interação de dispersão, que será denotada por $E_{dis}(2)$. O operador A não é utilizado pois não se considera o termo de troca em segunda ordem. Portanto,

$$(III-6) \quad E_{pol}(2) = E_{ind}(2) + E_{disp}(2)$$

Todos estes cálculos numéricos foram realizados usando-se uma base Gaussiana (11,7,2/6,1) contraída para [4,3,2/2,1].

Uma análise destes resultados mostrou que a energia de interação não pode ser obtida, simplesmente, somando-se os termos de perturbação até segunda ordem. Assim, termos de maior ordem devem ser considerados. Portanto, os valores finais foram obtidos da seguinte maneira:

1. Utilização do método de HF-campo auto consistente (SCF) para o dímero de água. Uma análise de Jeziorski mostra que o método SCF, além das energias eletrostática, troca e indução, contém, também, a energia de indução de troca e as energias de terceira e maiores ordens.
2. Como o HF simples não inclui a correlação intramolecular, o valor final da energia é calculado como sendo a soma SCF+E_{disp}, uma vez que a energia de dispersão é esperada ser mais sensível à influência da correlação intramolecular do que à energia eletrostática.

Isto continua a ser uma aproximação mas é, atualmente, a melhor existente.

IIIc - Críticas e Possíveis Modificações do Modelo PE

Todos os resultados, que serão apresentados a seguir, foram obtidos usando-se o dímero de água com as coordenadas descritas na tabela III-1. A orientação relativa das moléculas, usada por Jeziorski, é a orientação mútua otimizada por Hartree-Fock e somente a distância entre oxigênios R_{O-O} é variada.

O cálculo da energia para diferentes valores de R_{O-O} são mostrados nas tabelas III-2 e III-3. A tabela III-2 apresenta os resultados obtidos por Jeziorski e a tabela III-3 os resultados que nós obtivemos, usando o modelo PE (descrito no item IIb).

A primeira coisa que observamos, quando comparamos os dois resultados, é que o modelo PE é muito repulsivo comparado aos cálculos de Jeziorski para distâncias curtas entre os oxigênios (menores que 3 Å). Isto dá, como consequência adicional, o deslocamento da posição de equilíbrio (mínimo de energia) para valores maiores da distância entre oxigênios (de 2,75 Å para 3,00 Å). Ambos os resultados concordam, razoavelmente, para distâncias maiores que 3 Å (veja figura III-1).

Entretanto, se nós observarmos a parte de Lennard-Jones da energia do modelo PE, chegamos à conclusão que os parâmetros ϵ e σ , ou A e C , são, realmente, parâmetros ajustados e a energia de Lennard-Jones (LJ) do modelo PE não representa a energia real de LJ. Na energia real de LJ, a componente atrativa de van der Waals-London e a componente repulsiva de sobreposição de funções de onda devem ser as componentes de dispersão e troca, nos modelos de PE e Jeziorski respectivamente.

Se quisermos estabelecer um modelo, que possa ser usado para calcular interação entre água e outras moléculas, o procedimento correto consistirá em trabalhar com parâmetros reais para a energia de LJ. Tendo-se os parâmetros corretos para o termo de LJ, podemos obter parâmetros heteroatômicos usando as regras de combinação que podem ser observadas nos resultados de Scheraga (Scheraga, 1974 e 1978)

$$(III-7) \quad A_{ij} = (A_{ii} \cdot A_{jj})^{1/2}$$

$$C_{ij} = (C_{ii} \cdot C_{jj})^{1/2}$$

Para obtermos os valores reais dos termos de energia de LJ, ajustamos a energia de dispersão e a energia de troca de Jeziorski. A parte de dispersão deve corresponder à componente atrativa de van der Waals-London e, portanto, foi ajustada por um potencial atrativo com $n=-6$. A parte de troca deve corresponder à componente de repulsão, devido à sobreposição de funções de onda, e o melhor ajuste foi obtido por um potencial repulsivo com $n=9$. Portanto,

$$(III-8) \quad E_{ij} = \sum_{i \neq j} - \frac{C}{R_{ij}^6} + \frac{A}{R_{ij}^9}$$

onde os valores de C e A são, respectivamente, $1.101 \cdot 10^3$ Kcal.Å⁶/mol e $1.011 \cdot 10^5$ Kcal.Å⁹/mol.

O valor obtido para C concorda com Clementi, que prediz que C deve estar entre 676.5 e 1222.2 Kcal.Å⁶/mol para o dímero de água (Clementi, 1976).

Temos agora os valores corretos para a componente de LJ e quando calculamos a energia do dímero de água, utilizando o modelo PE, porém com a parte de LJ mudada, notamos que, para R_0 's menores que 3.70 Å, o resultado é totalmente diferente daquele obtido por Jeziorski. Isto indica que a energia eletrostática, no dímero de água, não pode ser representada somente pelos termos de multipolo, truncados em alguma ordem, e, portanto, nós incluímos um termo de correção na energia eletrostática que chamamos "termo de ligação de hidrogênio" e o ajuste mais simples, para esta componente, é um termo atrativo com $n=-7$

$$(III-9) \quad E_{hb} = \sum_{\substack{i, j \\ i \neq j}} - \frac{D}{R_{ij}^7}, \quad \text{onde,} \\ D = 9.033 \cdot 10^3 \text{ Kcal.Å}^7/\text{mol}$$

Agora uma pergunta importante: O termo de ligação de hidrogênio é ou não não par-aditivo?

A tabela III-4 apresenta os novos parâmetros para o modelo PE modificado. A tabela III-5 e a figura III-1 apresentam os valores da energia de interação do dímero de água no modelo PE, no modelo PE modificado e dos cálculos de Jeziorski.

OBSERVAÇÃO :

Todos os parâmetros aqui obtidos são expressos com quatro algarismos significativos porque este é o número de algarismos significativos dos parâmetros experimentais obtidos na literatura.

IIIId - Considerações Finais sobre o Modelo PE

Em vista dos resultados obtidos até agora, surge uma questão bastante básica sobre o modelo PE : Consegue, o modelo PE, incorporar a maior parte da componente não par-aditiva da energia da ligação de hidrogênio água-água, através da polarizabilidade da molécula de água pelo campo local?

Uma segunda pergunta pode também ser feita : Há alguma dependência angular na correção da energia eletrostática por nós introduzida (termo de ponte de hidrogênio)?

Para respostas a estas duas perguntas, é necessário que se faça um trabalho, similar ao feito por nós ao dímero de água, para trímeros de água usando, como teste-comparação, os resultados de Clementi (Clementi, 1980). Um outro caminho é tentar simular sistemas macroscópicos, como gelo ou água líquida, onde os efeitos coletivos são importantes, e compará-los com resultados experimentais. Estas simulações têm sido feitas por Clementi (Clementi, 1976) e por Barnes (Barnes, 1978, 1979 e 1980), mas ainda existem muitas dúvidas.

Um trabalho mais complexo a ser feito é estender este modelo para interações entre água e outras moléculas. Alguns trabalhos vem sendo feitos por Barnes e colaboradores (Goodfellow, 1981). Mas estes resultados continuam sujeitos à pergunta acima : A polarizabilidade da molécula de água e de alguns radicais da molécula que interage com a água tomam conta dos efeitos coletivos? Por outro lado os parâmetros de LJ, usados por Barnes e colaboradores, não são parâmetros reais de LJ que podem ser estendidos, através de regras de combinação (equação

III-7), e são, simplesmente, parâmetros de ajuste para cada caso. Isto constitui uma limitação prática para o uso deste modelo.

Quanto à questão do modelo PE englobar os efeitos coletivos, acreditamos que, para pequenas distâncias, isto é, quando começa a haver sobreposição de funções de onda (no caso do dímero de água R_0 menor que 3 Å, aproximadamente), o modelo não consegue incorporar tais efeitos.

Bibliografia

1. ONUCHIC, J.N. e ORTEGA, I. - On the Polarizable Electropole Model for Water: Comparison with Quantum Calculations. An. Acad. Bras. Ci. (a ser publicado)
2. JEZIORSKI, B. AND HEMERT, M. - Variation-Perturbation Treatment of the Hydrogen Bond between Water Molecules. Molec. Phys., 31(3):713-729, 1976.
3. BARNES, P. - Machine Simulation of Water. In: Progress in Liquid Physics, edited by C.A. Croxton. Wiley, Chichester, 1978.
4. BARNES, P. et al - Cooperative Effects in Simulated Water. Nature, 282:459-464, Nov., 1979.
5. BARNES, P. et al - Co-operative and Quadrupole Effects in Order-Disorder Transitions in Crystalline Ices. Faraday Disc. Chem. Soc., 62:210-220, 1980.
6. GOODFELLOW, J.M. et al - Monte Carlo Computer Simulation of Water-Amino Acid Interactions. 1981 (submetido a publicação).
7. SCHERAGA, H.A. et al - Intermolecular Potentials from Crystal Data. III. Determination of Empirical Potentials and Application to the Packing Configurations and Lattice Energies in Crystals of Hydrocarbons, Carboxylic Acids, Amines, and Amides. J. Phys. Chem., 74(16):1595-1619, 1974.
8. SCHERAGA, H.A. et al - A Revised Empirical Potential for Conformational, Intermolecular, and Solvation Studies. 1. Evaluation of Problem and Description of

Model. J.Phys.Chem., 82(23):2497-2503, 1978.

9. CLEMENTI,E. - Determination of Liquid Water Structure. Berlin, Springer Verlag, 1976. (Lectures Notes in Chemistry, V.2)
10. CLEMENTI,E. et al - Nonadditivity of Interaction in Water Trimers. Int.J.Quantum Chem., 12:377-398, 1980.

* ATOMO	* X (Å)	* Y (Å)	* Z (Å)	*

* O1	* 0.0	* 0.0	* 0.0	*

* H1	* 0.9568	* 0.0	* 0.0	*

* H2	* -0.2456	* 0.9252	* 0.0	*

* O2	* Ro-o	* 0.0	* 0.0	*

* H3	*0.5054+Ro-o*	-0.2918	* 0.7587	*

* H4	*0.5054+Ro-o*	-0.2918	* -0.7587	*

TABELA III-1 - Coordenadas dos átomos no sistema de duas moléculas de água .

```

*****
* (Ro-o)Å * Etotat * Etroca * Edispersão*
*          * Kcal/mol * Kcal/mol * Kcal/mol *
*****
* 2.12      * 20.16      * 105.49      * -14.46      *
*****
* 2.33      * 2.31      * 51.58      * -8.41      *
*****
* 2.54      * -3.97      * 25.11      * -4.89      *
*****
* 2.75      * -5.62      * 12.03      * -2.85      *
*****
* 3.00      * -5.41      * 4.90      * -1.54      *
*****
* 3.70      * -3.00      * 0.30      * -0.31      *
*****
* 4.76      * -1.19      * 0.00      * -0.05      *
*****
* 7.94      * -0.21      * 0.00      * -0.00      *
*****

```

TABELA-III-2-Valores de energia de Jeziorski para o dímero de água na orientação dada na tabela III-1.

*	* Etotai	* Erepulsiva	* Eatrativa	*
* (Ro-o)Å	*	* LJ	* LJ	*
*	* Kcal/mol	* Kcal/mol	* Kcal/mol	*

* 2.12	* 168.16	* 216.82	* -25.74	*

* 2.33	* 40.61	* 69.80	* -14.61	*

* 2.54	* 6.13	* 24.78	* -8.70	*

* 2.75	* -2.97	* 9.55	* -5.40	*

* 3.00	* -4.85	* 3.36	* -3.20	*

* 3.70	* -2.90	* 0.27	* -0.91	*

* 4.76	* -1.11	* 0.01	* -0.20	*

* 7.94	* -0.18	* 0.00	* -0.01	*

TABELA-III-3-Valores de energia de Barnes para o dímero de água na orientação da tabela-III-1.

TABELA-III-4-Modelo FE modificado.

* Ro-o	* modelo PE	* modelo PE	* resultado	*
* (Å)	* Kcal/mol	* modificado*	de	*
*	*	* Kcal/mol	* Jeziorski	*

* 2.12	* 168.16	* 34.88	* 20.16	*

* 2.33	* 40.61	* 4.24	* 2.31	*

* 2.54	* 6.13	* -4.31	* -3.97	*

* 2.75	* -2.97	* -6.02	* -5.62	*

* 3.00	* -4.85	* -5.51	* -5.41	*

* 3.70	* -2.90	* -2.86	* -3.00	*

* 4.76	* -1.11	* -1.10	* -1.19	*

* 7.94	* -0.18	* -0.18	* -0.21	*

TABELA-III-5-Energia total de interação entre
duas moléculas de égua pelos três métodos.

FIGURA III-1 - Valores da energia total do dímero de água no modelo PE, no modelo PE modificado e dos cálculos de Jeziorski (coordenadas do dímero de água encontram-se na tabela III-1).

IV - CALCULO DA INTERACAO ACIDO VIOLURICO-AGUA

=====

USANDO O MODELO DE ELETROPOLO POLARIZAVEL

=====

IVa - Resumo do cálculo

Com a finalidade de verificar a viabilidade do modelo de eletropolo polarizável (PE), discutido nos segundo e terceiro capítulos, realizamos alguns cálculos da interação água-ácido violúrico utilizando este modelo. Utilizamos o modelo PE original, proposto por Barnes, sem as modificações que propusemos no terceiro capítulo.

Em um estágio inicial, consideramos o oxigênio fixo (posição cristalográfica) e realizamos apenas a rotação da molécula de água. Fazendo isto, o termo LJ permanece constante segundo este modelo e, portanto, apenas as partes eletrostáticas de de polarização mudam. Assim, pudemos observar quão bem este modelo consegue prever a orientação da molécula de água, supondo a posição do oxigênio fixa.

Em um estágio final, obtivemos resultados preliminares da simulação de Monte Carlo, para a determinação da posição da molécula de água no ácido violúrico. O problema central desta simulação está em como se obter os parâmetros LJ, para o cálculo da energia de interação entre água e ácido violúrico.

Conforme o que foi dito no primeiro capítulo, a cela unitária do ácido violúrico é composta de quatro moléculas. As coordenadas cristalográficas de uma molécula do ácido e de uma molécula da água estão descritas na tabela IV-1. As três demais moléculas da cela unitária são geradas, a partir da primeira molécula, segundo as seguintes transformações :

1. $x, b-y, z+c/2$
2. $x+a/2, y+b/2, z$
3. $x+a/2, b/2-y, z+c/2$

Os valores de a, b e c , descritos no primeiro capítulo, são 6.217 Å, 14.373 Å e 7.516 Å respectivamente.

Durante todo o cálculo, o ácido violúrico foi mantido fixo e seus átomos foram considerados não polarizáveis. As cargas dos átomos foram calculadas, usando-se métodos semi-empíricos como CNDO (Complete Neglect of Differential Overlap) e INDO (Intermediate Neglect of Differential Overlap), programa de autoria de Bruns. Maiores detalhes sobre tais métodos, hoje usados rotineiramente na química quântica, podem ser encontrados na literatura corrente (Pople, 1970). Deixamos por isto de discutí-los em detalhes nesta dissertação. O uso de métodos quânticos em biofísica foi recentemente discutido no Brasil em simpósio realizado em São Carlos, por ocasião da visita do Professor Enrico Clementi ao nosso grupo (maio de 1982).

Nos cálculos da rotação da água utilizamos as cargas fornecidas por CNDO. Na simulação de Monte Carlo, os valores de INDO são usados somente para verificar se o resultado é muito sensível ao método com que as cargas são calculadas. A tabela IV-2 apresenta os valores das cargas

calculadas pelos dois métodos. Os valores do dipolo inicial, quadrupolo e polarizabilidade da água encontram-se na tabela II-1.

IVb - Cálculo da orientação da molécula de água

Na parte inicial deste trabalho, não nos preocupamos em obter dados de simulação. A posição do oxigênio foi mantida fixa (posição cristalográfica) e fizemos, então, rotações da molécula de água ao redor dos seus três eixos (os eixos da molécula de água estão descritos na figura II-1). O sentido de rotação, ao redor do eixo X, está apresentado na figura IV-1 e, ao redor dos eixos Y e Z, é indiferente devido à simetria do cristal (cada plano do cristal do ácido violúrico apresenta simetria especular).

É interessante notar que, por estarmos trabalhando com um modelo pontual da água localizado na posição do seu oxigênio, a parcela da energia, referente ao potencial de Lennard-Jones, permaneceu constante durante a rotação porque a posição do oxigênio permaneceu fixa. Este tipo de cálculo é importante, uma vez que nos desvinculamos da complexidade dos parâmetros de LJ e pudemos fazer uma primeira previsão teórica da ligação de hidrogênio bifurcada. Todos os cálculos deste item utilizam as cargas calculadas por CNDO. Para o cálculo da energia, toda a cela unitária foi usada e esta foi repetida em todo espaço, usando as condições de simetria do cristal. No cálculo da energia somente pares situados a distâncias inferiores a 6.1 Å foram computados; este limite é arbitrário e, quanto maior o seu valor, maior o tempo de computador necessário. O valor 6.1 Å foi por nós adotado de modo que fossem incluídas, pelo menos, interações entre planos vizinhos e interações entre a molécula de água e as demais moléculas de água ao seu redor.

Os resultados obtidos estão apresentados nas figuras IV-2, IV-3 e IV-4 que mostram os resultados da rotação da água ao redor dos seus eixos X, Y e Z respectivamente. A

posição cristalográfica da água é aquela apresentada na figura IV-1. A energia de interação água-ácido violúrico, considerando somente as partes eletrostática e de polarização, é de -14.9 Kcal/mol na posição cristalográfica.

Ao observarmos a rotação da água, ao redor dos seus eixos X, Y e Z, notamos que a orientação da molécula de água, obtida por este método, apresenta uma concordância muito grande com os resultados cristalográficos e isto mostra que a interação eletrostática é fundamental para a estrutura do ácido violúrico monohidratado. É interessante notar que o poço de potencial é muito mais estreito em relação a rotações ao redor do eixo X do que ao redor do eixo Y, o que nos permite prever uma maior liberdade de rotação da água fora do plano do que no plano da molécula.

A figura IV-4 apresenta uma rotação ao redor do eixo Z (orientação do dipolo de água), o que nos permite observar variações da energia de interação do quadrupolo da molécula com o restante do sistema. Pode-se notar, também, que estas variações são invariantes a rotações de 180 graus, o que era de se prever, uma vez que a energia do sistema deve ser a mesma se trocarmos os hidrogênios de lugar. É interessante ainda notar que a variação de energia, que depende do quadrupolo, apresenta um valor significativo (a altura do poço de energia é da ordem de 5 Kcal/mol) e isto é esperado, uma vez que o hiperbolóide definido pelo quadrupolo apresenta Q_{xx} , Q_{yy} e Q_{zz} como semi-eixos, a menos do sinal negativo, e, ao efetuarmos uma rotação ao redor do eixo Z, a variação da energia será considerável pois Q_{xx} e Q_{yy} são completamente diferentes (valores do quadrupolo da água encontram-se na tabela II-1). Esta diferença entre Q_{xx} e Q_{yy} é facilmente compreendida, uma vez que a molécula de água não apresenta simetria azimutal em relação ao eixo Z.

A forma dos Pocos de energia deve se aproximar muito da forma real, para rotações ao redor do eixo Z. O POCO de Potencial, devido a rotações ao redor dos eixos X e Y, deve se aproximar da realidade somente nas regiões próximas dos mínimos de energia; nas regiões em que $H(5)$ se aproxima de um dos hidrogênios da água, a repulsão deve ser muito maior devido ao fato que efeitos quânticos tornam-se importantes e a aproximação de multipolos não funciona mais (Conforme discutido no terceiro capítulo, o modelo de PE é precário quando ocorre sobreposição de funções de onda).

IVc - Resultados Preliminares da Simulação de Monte Carlo

Para verificar melhor a validade deste modelo e a sensibilidade do mesmo aos parâmetros de Lennard-Jones, obtivemos alguns resultados preliminares da interação ácido violúrico-água, utilizando o método de Monte Carlo. Colocamos, arbitrariamente, alguns parâmetros de LJ para interação entre cada átomo do ácido violúrico e a molécula de água e realizamos a simulação. Os valores destes parâmetros de LJ estão descritos na tabela IV-3. Para cada posição, durante a simulação, o cálculo da energia é realizado de maneira análoga ao cálculo descrito no item anterior.

O cálculo de Monte Carlo foi realizado levando-se em conta que, em cada ciclo, a molécula de água é movimentada com o seguinte critério:

1. As coordenadas x, y e z do oxigênio variam, no máximo, 0.04 Å, isto é, a posição final pode ser qualquer ponto, com igual probabilidade, dentro de um cubo de lado 0.08 Å, onde a posição inicial se situa no centro do cubo.
2. A máxima rotação da molécula é de 9 graus e o eixo de rotação X, Y ou Z (agora são os eixos do ácido violúrico e não os da molécula de água) é escolhido aleatoriamente com igual probabilidade.

Começamos a simulação a partir de duas configurações diferentes. Uma, na qual a molécula de água foi deslocada de 1 Å da posição cristalográfica e, como pode ser visto na figura IV-5, isto implica em uma energia

inicial muito grande, que rapidamente decai para energias em torno do "valor de equilíbrio". Isto ocorre muito depressa, isto é, depois de uns dois mil ciclos, indicando um poço de potencial muito estreito para a água. Em um segundo tipo de perturbação, a molécula de água foi rodada de 60 graus a partir de sua orientação cristalográfica (no plano da molécula do ácido violúrico). Como também pode ser observado na figura IV-5, o sistema retorna para energias em torno do "valor de equilíbrio" muito rapidamente. As cargas usadas durante a simulação foram calculadas por CNDO. Todos os valores médios (valores esperados) apresentados a seguir foram calculados depois da estabilização térmica do sistema, isto é, entre os ciclos 3000 e 20000. É relevante mencionar que a temperatura por nós usada durante a simulação, foi de 293 graus Kelvin.

Conforme pode ser observado, na tabela IV-4, a estrutura da água no cristal de ácido violúrico monohidratado pode ser razoavelmente simulada usando-se o método de Monte Carlo.

Fizemos também simulação de Monte Carlo (resultados também na tabela IV-4) usando as cargas calculadas por INDO. Foram usados 5000 ciclos para o cálculo dos valores esperados. Apesar das cargas diferirem da ordem de 10 por cento, nós não encontramos mudanças muito importantes ao compararmos com os resultados obtidos por CNDO.

A tabela IV-4 apresenta a posição cristalográfica da água, assim como os resultados obtidos por CNDO e INDO, com os respectivos desvios padrão.

O resultado obtido por CNDO está apresentado na figura IV-1 e pode-se notar que o oxigênio da água está muito próximo do hidrogênio H(5) do ácido violúrico (a distância O(W)-H(5) é 0.2 Å menor do que a obtida

experimentalmente), assim como a orientação da molécula de água difere 10 graus da cristalográfica. Como a orientação da molécula de água, desde que o oxigênio se encontre na posição cristalográfica, é muito bem definida (item IVb), acreditamos que estes erros são devidos, principalmente, ao fato dos parâmetros LJ terem valores arbitrariamente escolhidos e, no caso da ligação de hidrogênio O(5)-H(5)...O(W), eles foram subestimados.

Pode-se então notar a importância da energia eletrostática na estrutura da água no ácido violúrico, uma vez que, apesar de termos valores arbitrários para os parâmetros de LJ, ela foi razoavelmente simulada.

Acreditamos que para se obter melhores resultados, utilizando-se este método, deve-se atender ao procedimento proposto no terceiro capítulo e que pode ser assim resumido :

1. Verificar se a expansão de multipolos, truncada em alguma ordem, consegue representar totalmente a energia eletrostática.
2. Trabalhar com parâmetros de LJ que sejam parâmetros reais de LJ, de modo que os potenciais obtidos possam ser transferíveis, através das regras de combinação (expressão III-7). A maneira de obter estes potenciais envolveria um programa de pesquisa muito elaborado.
3. Tentar verificar se a inclusão de polarizabilidade toma conta, razoavelmente, dos efeitos coletivos.

Bibliografia

1. BRUNS, R. - CINDOM - CNDO and INDO Molecular Orbital Program (Fortran IV) for Medium Sized Computers - UNICAMP
2. POPLE, J.A. and BEVERIDGE, D.L. - Approximate Molecular Orbital Theory. New York, McGraw-Hill, c1970.
3. Mini Simpósio de Métodos Quânticos em Biofísica, São Carlos, Instituto de Física e Química de São Carlos, maio, 1982.

* ATOMO	*	X(Å)	*	Y(Å)	* Z(Å) *

* C(2)	*	0.0	*	6.155	* 0.0 *
* C(4)	*	0.0	*	4.092	* 1.333 *
* C(5)	*	0.0	*	3.309	* 0.091 *
* C(6)	*	0.0	*	4.029	* -1.232 *
* N(1)	*	0.0	*	5.397	* -1.132 *
* N(3)	*	0.0	*	5.463	* 1.194 *
* N(5)	*	0.0	*	2.044	* 0.250 *
* O(2)	*	0.0	*	7.378	* 0.006 *
* O(4)	*	0.0	*	3.605	* 2.443 *
* O(5)	*	0.0	*	1.279	* -0.836 *
* O(6)	*	0.0	*	3.496	* -2.280 *
* H(1)	*	0.0	*	5.910	* -2.06 *
* H(3)	*	0.0	*	6.006	* 2.00 *
* H(5)	*	0.0	*	0.322	* -0.47 *

* O(W)	*	0.0	*	1.157	* 3.717 *
* H(W1)	*	0.0	*	1.907	* 3.10 *
* H(W2)	*	0.0	*	1.528	* 4.58 *

TABELA IV-1 - Coordenadas do ácido violúrico monohidratado.

```

*****
*   ÁTOMO       *   CNDO       *   INDO       *
*****
*   C(2)        *   0.4495     *   0.5278     *
*****
*   C(4)        *   0.3528     *   0.4270     *
*****
*   C(5)        *   -0.0599     *   -0.0711     *
*****
*   C(6)        *   0.3616     *   0.4347     *
*****
*   N(1)        *   -0.2404     *   -0.2627     *
*****
*   N(3)        *   -0.2484     *   -0.2691     *
*****
*   N(5)        *   0.0714     *   0.0716     *
*****
*   O(2)        *   -0.3712     *   -0.4251     *
*****
*   O(4)        *   -0.3108     *   -0.3653     *
*****
*   O(5)        *   -0.1568     *   -0.1842     *
*****
*   O(6)        *   -0.2848     *   -0.3378     *
*****
*   H(1)        *   0.1388     *   0.1377     *
*****
*   H(3)        *   0.1482     *   0.1490     *
*****
*   H(5)        *   0.1499     *   0.1675     *
*****

```

TABELA IV-2 - Cargas do ácido violúrico em unidades atômicas.

* ÁTOMO	* GRUPO	* A	* C	*
*	*	* (Kcal.Å ^{o12} /mol)* (Kcal.Å ^{o6} /mol		*

* C	* >C=O	* 3.645 × 10 ⁵	* 4.10 × 10 ²	*

* C	* >C=N-	* 2.459 × 10 ⁵	* 2.85 × 10 ²	*

* N	* >N-H	* 2.169 × 10 ⁵	* 2.95 × 10 ²	*

* N	* =N-	* 2.169 × 10 ⁵	* 2.95 × 10 ²	*

* O	* >C=O	* 1.463 × 10 ⁶	* 2.83 × 10 ²	*

* O	* -OH	* 1.463 × 10 ⁶	* 2.83 × 10 ²	*

* H	* H	* 0.0	* 0.0	*

TABELA IV-3 - Parâmetros de LJ entre os átomos do ácido violúrico e a molécula de água.

```

*****
*  ÁTOMO  * X(Å) * ΔX(Å) * Y(Å) * ΔY(Å) * Z(Å) * ΔZ(Å) *
*****
*                POSIÇÃO CRISTALOGRAFICA                *
*****
*  O(W)    * 0.000*          * 1.157*          * 3.717 *          *
*****
*  H(W1)   * 0.000*          * 1.907*          * 3.10  *          *
*****
*  H(W2)   * 0.000*          * 1.528*          * 4.58  *          *
*****
*                MONTE CARLO - CNDO                *
*****
*  O(W)     * 0.060* 0.19 * 0.941* 0.06  * 3.770 * 0.16 *
*****
*  H(W1)    *-0.050* 0.28 * 1.830* 0.21  * 3.29  * 0.21 *
*****
*  H(W2)    *-0.080* 0.34 * 1.177* 0.22  * 4.70  * 0.22 *
*****
*                MONTE CARLO - INDO                *
*****
*  O(W)     * 0.15 * 0.15 * 0.90 * 0.07  * 3.77  * 0.15 *
*****
*  H(W1)    *-0.25 * ---- * 1.60 * 0.36  * 3.43  * 0.36 *
*****
*  H(W2)    * 0.07 * ---- * 1.05 * 0.28  * 4.60  * 0.28 *
*****

```

TABELA IV-4- Resultado da simulação de Monte Carlo do sistema ácido violúrico - água usando modelo PE.

FIGURA IV-1

FIGURA IV-1 - Plano do cristal do ácido violúrico monohidratado

- Em pontilhado está o sentido de rotação da água ao redor do eixo X (itens IVb e VIId).

- Resultado da simulação de Monte Carlo: Posição cristalográfica em triângulos e posição simulada em círculos (item IVc).

FIGURA IV-2

FIGURA IV-2 - Rotação da molécula de água ao redor do eixo X, utilizando o modelo PE.

FIGURA IV-3

FIGURA IV-3 - Rotação da molécula de éster ao redor do eixo Y, utilizando o modelo PE.

FIGURA IV - 4

FIGURA IV-4 - Rotação da molécula de água ao redor do eixo Z, utilizando o modelo PE.

FIGURA IV-5

FIGURA IV-5 - Energia total do sistema água-ácido violúrico como função dos ciclos de Monte Carlo.

V - DESENVOLVIMENTO DOS POTENCIAIS "AB INITIO"

=====

PARA A INTERAÇÃO ÁCIDO VIOLÚRICO - ÁGUA

=====

Va - Método de Obtenção dos Potenciais

O método que utilizamos, para calcular os potenciais de interação entre uma molécula de água e uma molécula do ácido violúrico, está descrito no item IIc desta dissertação (Clementi, 1976 e 1980).

Realizamos os cálculos da energia de interação entre o ácido violúrico e a água utilizando uma base mínima, isto é, para os oxigênios, nitrogênios e carbonos utilizamos uma base gaussiana (8,3) contraída em uma [2,1] e para os hidrogênios, uma base gaussiana (4) contraída em uma [1]. A otimização dos parâmetros dos expoentes das funções gaussianas, assim como os coeficientes de contração, encontram-se na tabela V-1 e a otimização dos mesmos foi realizada por Clementi (Clementi, 1978). Para realizar o procedimento auto-consistente no cálculo de HF de moléculas, utilizam-se, como coeficientes C_{ij} (expressão II-5) iniciais, aqueles obtidos do cálculo de HF de cada átomo isoladamente. Estes coeficientes estão, também, apresentados na tabela V-1.

Conforme é conhecido da literatura (Clementi, 1980), a utilização de uma base mínima pode levar a erros superiores a 100 por cento, no cálculo da energia de interação. Este erro, conhecido como erro de sobreposição de base, pode ser razoavelmente eliminado através da

utilização do método de contrapeso (Clementi, 1980). Este método consiste em que todos os cálculos, necessários para o cálculo da energia de interação, sejam realizados com a mesma base, isto é:

1. $E(A)$ é calculado com a base de A e a de B;
2. $E(B)$ é calculado com a base de A e a de B;
3. $E(AB)$ é calculado com a base de A e a de B, como já era realizado normalmente;

A energia de interação é então calculada, como foi descrito no segundo capítulo, pela expressão

$$(V-1) \quad I(AB) = E(AB) - E(A) - E(B)$$

No nosso caso, A é o ácido violúrico e B é a molécula de água.

O uso deste método faz com que os erros se subtraíam, fazendo com que seja possível se obter um resultado razoável, trabalhando-se com uma base mínima.

Para escolhermos quais as interações que deveríamos calcular para o desenvolvimento dos potenciais, utilizamos o seguinte critério :

a) No plano da molécula do ácido violúrico, escolhemos nove direcções (figura V-1). Em cada uma destas direcções, utilizamos três orientações diferentes da molécula de água, descritas a seguir :

1. O dipolo da água encontra-se na direção considerada e os seus dois hidrogênios encontram-se situados no plano da molécula do ácido violúrico. Definimos esta orientação por tipo 1.
2. O dipolo da água encontra-se na direção considerada e os seus dois hidrogênios encontram-se situados no plano perpendicular ao plano da molécula do ácido violúrico. Definimos esta orientação por tipo 2.
3. O grupo OH da molécula de água encontra-se na direção considerada. Definimos esta orientação por tipo 3.

O sentido dos dipolos da água e do grupo OH na direção considerada, depende, nos três casos, do grupo do ácido violúrico que determina esta direção. Em todos os casos, procuramos fazer com que um oxigênio estivesse sempre "olhando" um hidrogênio. Por exemplo, no caso 1, se a direção é determinada por um grupo NH ou OH, o dipolo aponta para fora da molécula de ácido violúrico e, se a direção é determinada por um grupo CO, o dipolo aponta para dentro.

b) Escolhemos, também, direções perpendiculares ao plano da molécula de ácido violúrico, cada uma passando por um átomo da molécula. Neste caso, consideramos apenas duas orientações da molécula de água: uma, em que o dipolo da molécula de água aponta para o plano do ácido violúrico (tipo 4) e outra, em que ele aponta para fora do plano (tipo 5). Uma direção a 45 graus do plano do ácido violúrico, apontando para o grupo C(2)=O(2), também foi considerada.

Alguns resultados, obtidos na determinação destes potenciais, estão apresentados na figura V-2.

Conforme o que foi descrito no segundo capítulo, como utilizamos um base mínima, os pontos obtidos foram ajustados em uma expressão analítica muito simples, que se apresenta como segue

$$(V-2) \quad I(A,B) = \sum_{i,j} - \frac{A_{ij}^{ab}}{R_{ij}^6} + \frac{B_{ij}^{ab}}{R_{ij}^{12}} + \frac{C_{ij}^{ab} \cdot q_i \cdot q_j}{R_{ij}}$$

onde A_{ij} , B_{ij} e C_{ij} são as constantes que devem ser ajustadas,

R_{ij} é a distância entre um átomo i de A e um átomo j de B ,

q_i e q_j são as Nch de i e j ,

a e b são os índices que identificam as classes dos átomos i e j respectivamente.

As constantes ajustadas devem ser as mesmas se os átomos pertencem à mesma classe.

Em todos os cálculos realizados, utilizamos o Programa IBMOL de autoria de Clementi.

Vb - Valores obtidos

De acordo com o critério proposto no item anterior, foram calculados 159 pontos da interação entre uma molécula de água e uma molécula de ácido violúrico. Durante o processo de ajuste destes pontos, em uma expressão analítica da forma da expressão V-2, somente pontos com energia inferior a 10 Kcal/mol foram considerados, reduzindo, assim, o número de pontos utilizados durante o ajuste a 139. Para todos os pontos calculados, as estruturas da molécula de água e do ácido violúrico foram consideradas rígidas. A estrutura do ácido violúrico encontra-se descrita na tabela IV-1. A geometria da molécula de água foi obtida a partir de resultados experimentais. O valor da distância OH é 0.9572 Å e o do ângulo HOH é 104.52 graus (Benedict, 1956).

A tabela V-2 apresenta os valores que obtivemos para a NCH e o MOVS dos átomos do ácido violúrico. Pelo critério apresentado no segundo capítulo (valores próximos de MOVS e NCH), dividimos os átomos em oito classes diferentes. A tabela V-2 também apresenta a classe de cada um dos átomos do ácido violúrico. A NCH do oxigênio é -0.6802 e a do hidrogênio é 0.3401 na molécula de água (unidades atômicas). É interessante lembrar que tanto a NCH como o MOVS dependem da base que é utilizada.

Os parâmetros de ajuste, que obtivemos, estão apresentados nas tabelas V-3a e V-3b.

A expressão ajustada representa os valores originais, com um desvio padrão de 0.77 Kcal/mol. A tabela V-4 apresenta os valores da energia calculada por HF e da energia ajustada, assim como a diferença entre elas.

Colocamos todos os pontos utilizados na tabela V-4, pois, não devemos observar apenas o desvio padrão mas, também, cada ponto isoladamente, para verificar se não existem alguns pontos específicos mal representados. Todos os valores, apresentados na tabela V-4, possuem três algarismos significativos depois do ponto, que é a precisão obtida devido ao truncamento no cálculo de HF. Entretanto, como o potencial foi ajustado com um desvio padrão de 0.77 kcal/mol, usaremos, para os valores de energia apresentados a seguir, apenas um algarismo depois do ponto, não tendo sentido utilizar precisão superior.

Este potencial ajustado foi, então, utilizado por nós para tentar entender a interação entre a água e o ácido violúrico. Os resultados obtidos estão apresentados no sexto capítulo.

V_c - Potencial de Interação água-água

Durante os cálculos de simulação de Monte Carlo, apresentados no sexto capítulo, necessitamos do potencial de interação entre moléculas de água. O potencial, por nós utilizado, foi desenvolvido por Clementi (Matsuoka e Clementi, 1976) e é um potencial muito mais refinado do que aquele, por nós desenvolvido, para a interação água - ácido violórico.

Todos os cálculos HF foram realizados utilizando-se uma base estendida, isto é, uma base gaussiana (11,7,1) contraída em uma [4,3,1] para o oxigênio e uma base gaussiana (6,1) contraída em uma [2,1] para o hidrogênio. A correção de energia de correlação foi incluída através do método de interação de configurações (Clementi, 1976).

Como os cálculos "ab initio" foram muito mais precisos, o ajuste justificou a utilização de uma expressão analítica muito mais complexa, descrita como segue

$$\begin{aligned}
 (V-3) \quad E = & a \cdot a \left(1/r_{13} + 1/r_{14} + 1/r_{23} + 1/r_{24} \right) + 4 \cdot a \cdot a / r_{78} - \\
 & - 2 \cdot a \cdot a \left(1/r_{18} + 1/r_{28} + 1/r_{37} + 1/r_{47} \right) + \\
 & + a_1 \exp(-b_1 \cdot r_{56}) + \\
 & + a_2 \left[\exp(-b_2 \cdot r_{13}) + \exp(-b_2 \cdot r_{14}) + \exp(-b_2 \cdot r_{23}) + \right. \\
 & \quad \left. + \exp(-b_2 \cdot r_{24}) \right] + \\
 & + a_3 \left[\exp(-b_3 \cdot r_{16}) + \exp(-b_3 \cdot r_{26}) + \exp(-b_3 \cdot r_{35}) + \right. \\
 & \quad \left. + \exp(-b_3 \cdot r_{45}) \right] - \\
 & - a_4 \left[\exp(-b_4 \cdot r_{16}) + \exp(-b_4 \cdot r_{26}) + \exp(-b_4 \cdot r_{35}) + \right. \\
 & \quad \left. + \exp(-b_4 \cdot r_{45}) \right]
 \end{aligned}$$

onde a , a_1 , a_2 , a_3 , a_4 , b_1 , b_2 , b_3 , b_4 são parâmetros e os demais termos distâncias.

Os parâmetros da expressão V-3 estão descritos na tabela V-5 e a definição das distâncias utilizadas está na figura V-3.

Apesar do potencial de interação água-água ser muito mais refinado do que o por nós desenvolvido para a interação água-ácido violúrico e poder parecer desnecessário utilizar algo tão complexo para esta interação, utilizamos tal expressão pelo simples fato dela já estar disponível e não requerer tanto tempo para ser computada pois, este cálculo já se encontra otimizado no programa de Monte Carlo.

Bibliografía

1. CLEMENTI, E. - Determination of Liquid Water Structure. Berlin, Springer Verlag, 1976. (Lectures Notes in Chemistry, V.2)
2. CLEMENTI, E. - Computational Aspects for Large Chemical Systems. Berlin, Springer Verlag, 1980. (Lectures Notes in Chemistry, V.19)
3. GIANOLIO, L.; PAVANI, R.; CLEMENTI, E. - A New Algorithm for Obtaining Contracted Basis Set from Gaussian Type Functions. Gazz.Chim.It., 108:181-205, 1978.
4. CLEMENTI, E. - IBMOL Program. Veja por exemplo: ORTOVELA, E.; CASTIGLIONE, G.; CLEMENTI, E. - A Program to Introduce Local Symmetry in ab initio computations of molecules: IBMOL-7. Comput.Phys.Commun., 12(3):337-57, 1980.
5. BENEDICT, W.S.; GAILAR, N.; FLYLER, E.K. - Rotation-Vibration Spectra of Deuterated Water Vapor. J.Chem.Phys., 24(6):1139-65, Jun., 1956.
6. MATSUOKA, O.; CLEMENTI, E.; YOSHIMINE, M. - CI Study of the Water Dimer Potential Surface. J.Chem.Phys., 64(4):1351-1361, Feb., 1976.

```

*****
*           BASE GAUSSIANA PARA O HIDROGÊNIO           *
*           (4) CONTRAÍDA EM [1]                       *
*                                                         *
*****
*      *                               *               *
* TIPO *      EXPOENTES                *      COEFICIENTES      *
*      *                               *               *
*****
* S  *      0.130134E+02                *      0.196780E-01      *
* S  *      0.196250E+01                *      0.137952E+00      *
* S  *      0.444569E+00                *      0.478313E+00      *
* S  *      0.121953E+00                *      0.501131E+00      *
*****
*                                                         *
*           COEFICIENTES INICIAIS Cij                 *
*                                                         *
*****
* 1S  *      1.000000                    *
*****

```

TABELA V-1a - Base gaussiana contraída utilizada para o Hidrogênio (unidades atômicas).

```

*****
*          BASE GAUSSIANA PARA O CARBONO          *
*          (7,3) CONTRAÍDA EM [2,1] - C(3P)      *
*                                                  *
*****
*          *          *          *          *
* TIPO *          EXPOENTES          *          COEFICIENTES          *
*          *          *          *          *
*****
* S *          0.126718E+04          *          0.548900E-02          *
* S *          0.190604E+03          *          0.406250E-01          *
* S *          0.432477E+02          *          0.181793E+00          *
* S *          0.119649E+02          *          0.458558E+00          *
* S *          0.366312E+01          *          0.457314E+00          *
*****
* S *          0.539158E+00          *          0.410472E+00          *
* S *          0.167130E+00          *          0.645265E+00          *
*****
* F *          0.418735E+01          *          0.112119E+00          *
* F *          0.854053E+00          *          0.468083E+00          *
* F *          0.199770E+00          *          0.620758E+00          *
*****
*
*          COEFICIENTES INICIAIS Cij          *
*
*****
* 1S *          0.994391          *
*          *          0.017857          *
*****
* 2S *          0.303840          *
*          *          -1.040138          *
*****
* 2P *          1.000000          *
*****

```

TABELA V-1b - Base gaussiana contraída utilizada para o Carbono (unidades atômicas).

*	BASE GAUSSIANA PARA O NITROGÊNIO			*
*	(7,3) CONTRAÍDA EM [2,1] - N(4S)			*
*				*

*	*		*	*
* TIPO *	EXPOENTES	*	COEFICIENTES	*
*	*	*	*	*

* S *	0.177154E+04	*	0.535500E-02	*
* S *	0.266305E+03	*	0.397210E-01	*
* S *	0.603599E+02	*	0.179451E+00	*
* S *	0.167188E+02	*	0.456522E+00	*
* S *	0.513308E+01	*	0.461497E+00	*

* S *	0.780879E+00	*	0.411398E+00	*
* S *	0.237369E+00	*	0.646055E+00	*

* F *	0.612797E+01	*	0.115973E+00	*
* F *	0.126131E+01	*	0.472117E+00	*
* F *	0.291589E+00	*	0.616467E+00	*

*				*
*	COEFICIENTES INICIAIS Cij			*
*				*

* 1S *	0.994385			*
*	0.019319			*

* 2S *	0.312130			*
*	-1.042043			*

* 2F *	1.000000			*

TABELA V-1c - Base gaussiana contraída utilizada para o Nitrogênio (unidades atômicas).

*	BASE GAUSSIANA PARA O OXIGÊNIO			*
*	(7,3) CONTRAÍDA EM [2,1] - O(3F)			*
*				*

*	*	*	*	*
* TIPO *	EXPONENTES		* COEFICIENTES	*
*	*	*	*	*

* S *	0.233157E+04	*	0.533700E-02	*
* S *	0.350640E+03	*	0.395560E-01	*
* S *	0.795965E+02	*	0.179020E+00	*
* S *	0.221200E+02	*	0.455874E+00	*
* S *	0.682063E+01	*	0.461988E+00	*

* S *	0.107057E+01	*	0.415550E+00	*
* S *	0.321511E+00	*	0.643169E+00	*

* P *	0.814220E+01	*	0.122769E+00	*
* P *	0.168471E+01	*	0.476711E+00	*
* P *	0.374851E+00	*	0.614250E+00	*

*				*
*	COEFICIENTES INICIAIS Cij			*
*				*

* 1S *	0.993992			*
*	*	0.020212	*	

* 2S *	0.320014			*
*	*	-1.044040	*	

* 2F *	1.000000			*

TABELA V-1d - Base gaussiana contraída utilizada para o Oxigênio (unidades atômicas)

```

*****
*           *           *           *           *
*  ÁTOMO   *   NCH     *   MOVS     *   CLASSE  *
*           *           *           *           *
*****
*  C(2)    *   0.5869   *   1.5312   *   7       *
*****
*  C(4)    *   0.4492   *   1.4207   *   5       *
*****
*  C(5)    *   0.0195   *   1.0838   *   6       *
*****
*  C(6)    *   0.4581   *   1.4398   *   5       *
*****
*  N(1)    *  -0.5443   *   0.9444   *   3       *
*****
*  N(3)    *  -0.5761   *   0.9300   *   3       *
*****
*  N(5)    *  -0.0302   *   0.7810   *   4       *
*****
*  O(2)    *  -0.4351   *   0.2629   *   1       *
*****
*  O(4)    *  -0.3823   *   0.2874   *   1       *
*****
*  O(5)    *  -0.3828   *   0.4124   *   2       *
*****
*  O(6)    *  -0.3852   *   0.2894   *   1       *
*****
*  H(1)    *   0.3815   *   0.3337   *   8       *
*****
*  H(3)    *   0.4031   *   0.3428   *   8       *
*****
*  H(5)    *   0.4376   *   0.3353   *   8       *
*****

```

TABELA V-2 - NCH, MOVS e Classe dos átomos do Ácido
Violúrico (unidades atômicas).

*	*	*	*	*	*
* CLASSE *	AiJ	*	BiJ	*	CiJ
*	(Kcal.Å ⁶ /mol)	*	(Kcal.Å ¹² /mol)	*	adimensional
*	*	*	*	*	*

* 1 *	326.920	*	395555.4	*	0.95259

* 2 *	0.000	*	51832.2	*	1.03721

* 3 *	457.679	*	386363.4	*	1.08304

* 4 *	0.000	*	335961.4	*	1.00000

* 5 *	2294.137	*	966960.5	*	0.99629

* 6 *	0.000	*	528977.7	*	1.00000

* 7 *	0.000	*	62936.8	*	0.98200

* 8 *	0.057	*	161.5	*	1.09082

TABELA V-3a - Parâmetros do potencial de interação -
átomo do ácido violúrico com oxigênio
da molécula de água

```

*****
*               *               *               *               *
* CLASSE *      Aij *      Bij *      Cij *
*          *      (Kcal.Å06/mol) *      (Kcal.Å012/mol) *      adimensional *
*          *               *               *               *
*****
* 1 *      -15.332 *      341.5 *      1.02547 *
*****
* 2 *      -145.477 *      12.6 *      0.87712 *
*****
* 3 *      -295.694 *      8633.8 *      0.93415 *
*****
* 4 *      -26.852 *      311.5 *      1.20917 *
*****
* 5 *      101.884 *      99768.4 *      1.02103 *
*****
* 6 *      202.213 *      270872.3 *      1.00206 *
*****
* 7 *      174.216 *      48351.7 *      0.99562 *
*****
* 8 *      -30.267 *      311.0 *      0.94934 *
*****

```

TABELA V-3b - Parâmetros do potencial de interação -
 átomo do ácido violúrico com hidrogênio
 da molécula de água

```

*****
*           *           *           *           *
*           *           *           *           *
* Interação * Energia HF * Energia Calculada * Diferença *
*           *           *           *           *
*           *           *           *           *
*****
*           *           *           *           *
*   1   *   4.846   *   5.082   * -0.236   *
*   2   *   5.284   *   4.741   *  0.543   *
*   3   *   8.842   *   8.840   *  0.002   *
*   4   *  -2.925   *  -2.816   * -0.109   *
*   5   *  -2.806   *  -3.023   *  0.217   *
*   6   *  -3.198   *  -3.322   *  0.124   *
*   7   *  -2.651   *  -2.310   * -0.341   *
*   8   *  -2.663   *  -2.457   * -0.206   *
*   9   *  -2.772   *  -2.570   * -0.202   *
*  10   *  -1.451   *  -1.432   * -0.019   *
*  11   *  -0.683   *  -0.787   *  0.104   *
*  12   *  -0.283   *  -0.421   *  0.138   *
*  13   *   0.624   *   0.892   * -0.268   *
*  14   *   1.802   *   0.885   *  0.917   *
*  15   *   0.983   *   1.678   * -0.695   *
*  16   *  -1.798   *  -0.973   * -0.825   *
*  17   *  -0.655   *  -0.584   * -0.071   *
*  18   *  -1.098   *  -0.531   * -0.567   *
*  19   *  -1.328   *  -0.969   * -0.359   *
*  20   *  -0.521   *  -0.664   *  0.143   *
*  21   *   8.307   *  10.443   * -2.136   *
*  22   *  -3.378   *  -7.080   *  3.702   *
*  23   * -15.967   * -14.725   * -1.242   *
*  24   * -14.642   * -12.246   * -2.396   *
*  25   *  -7.836   *  -7.292   * -0.544   *
*  26   *  -7.589   *  -7.234   * -0.355   *
*  27   *  -3.862   *  -4.964   *  1.102   *
*  28   *  -4.448   *  -4.904   *  0.456   *
*****

```

*	29	*	-4.325	*	-4.862	* 0.537 *
*	30	*	-2.363	*	-3.431	* 1.068 *
*	31	*	-2.671	*	-3.338	* 0.667 *
*	32	*	-2.611	*	-3.309	* 0.698 *
*	33	*	-1.443	*	-2.388	* 0.945 *
*	34	*	-1.501	*	-2.127	* 0.626 *
*	35	*	-0.803	*	-1.308	* 0.505 *
*	36	*	5.579	*	6.467	* -0.888 *
*	37	*	6.412	*	6.215	* 0.197 *
*	38	*	-0.152	*	-1.181	* 1.029 *
*	39	*	-2.939	*	-2.684	* -0.255 *
*	40	*	-2.716	*	-2.871	* 0.155 *
*	41	*	-3.114	*	-3.101	* -0.013 *
*	42	*	-2.588	*	-2.142	* -0.446 *
*	43	*	-2.582	*	-2.303	* -0.279 *
*	44	*	-2.705	*	-2.364	* -0.341 *
*	45	*	-1.434	*	-1.312	* -0.122 *
*	46	*	-0.720	*	-0.737	* 0.017 *
*	47	*	-0.310	*	-0.400	* 0.090 *
*	48	*	3.512	*	4.009	* -0.497 *
*	49	*	-5.203	*	-6.350	* 1.147 *
*	50	*	-10.519	*	-10.065	* -0.454 *
*	51	*	-9.686	*	-8.833	* -0.853 *
*	52	*	-5.351	*	-5.290	* -0.061 *
*	53	*	-2.588	*	-2.961	* 0.373 *
*	54	*	-1.564	*	-2.002	* 0.438 *
*	55	*	-0.808	*	-1.158	* 0.350 *
*	56	*	-0.343	*	-0.628	* 0.285 *
*	57	*	4.969	*	4.997	* -0.028 *
*	58	*	-1.180	*	-1.754	* 0.574 *
*	59	*	-2.840	*	-2.854	* 0.014 *
*	60	*	-2.672	*	-2.338	* -0.334 *
*	61	*	-1.532	*	-1.405	* -0.127 *
*	62	*	-0.762	*	-0.790	* 0.028 *
*	63	*	-0.368	*	-0.458	* 0.090 *

*	64	*	2.466	*	2.533	*	-0.067	*
*	65	*	1.503	*	1.595	*	-0.092	*
*	66	*	2.917	*	3.609	*	-0.692	*
*	67	*	0.104	*	0.496	*	-0.392	*
*	68	*	0.011	*	0.302	*	-0.291	*
*	69	*	0.072	*	0.601	*	-0.529	*
*	70	*	-0.050	*	-0.124	*	0.074	*
*	71	*	-0.008	*	-0.216	*	0.208	*
*	72	*	0.949	*	1.115	*	-0.166	*
*	73	*	-3.291	*	-1.952	*	-1.339	*
*	74	*	-2.385	*	-1.566	*	-0.819	*
*	75	*	-1.167	*	-0.957	*	-0.210	*
*	76	*	-0.478	*	-0.561	*	0.083	*
*	77	*	0.072	*	0.089	*	-0.017	*
*	78	*	-3.472	*	-3.933	*	0.461	*
*	79	*	-3.402	*	-3.550	*	0.148	*
*	80	*	-1.356	*	-1.516	*	0.160	*
*	81	*	-0.543	*	-0.736	*	0.193	*
*	82	*	-0.237	*	-0.423	*	0.186	*
*	83	*	6.709	*	6.792	*	-0.083	*
*	84	*	0.860	*	0.446	*	0.414	*
*	85	*	-1.101	*	-0.775	*	-0.326	*
*	86	*	-0.941	*	-0.520	*	-0.421	*
*	87	*	-0.656	*	-0.292	*	-0.364	*
*	88	*	-0.328	*	-0.108	*	-0.220	*
*	89	*	2.609	*	2.133	*	0.476	*
*	90	*	0.907	*	0.934	*	-0.027	*
*	91	*	0.508	*	0.659	*	-0.151	*
*	92	*	0.261	*	0.391	*	-0.130	*
*	93	*	2.679	*	2.976	*	-0.297	*
*	94	*	0.936	*	0.782	*	0.154	*
*	95	*	0.512	*	0.555	*	-0.043	*
*	96	*	0.279	*	0.378	*	-0.099	*
*	97	*	3.275	*	3.171	*	0.104	*
*	98	*	1.254	*	1.186	*	0.068	*

```
*****
*      99      *      0.725      *      0.773      *      -0.048      *
*      100     *      0.373      *      0.439      *      -0.066      *
*      101     *      2.696      *      3.116      *      -0.420      *
*      102     *      -0.464     *      -0.503     *      0.039      *
*      103     *      -0.423     *      -0.391     *      -0.032     *
*      104     *      -0.287     *      -0.246     *      -0.041     *
*      105     *      3.436      *      3.835      *      -0.399      *
*      106     *      1.349      *      1.045      *      0.304      *
*      107     *      0.803      *      0.606      *      0.197      *
*      108     *      0.430      *      0.342      *      0.088      *
*      109     *      9.441      *      7.454      *      1.987      *
*      110     *      2.181      *      1.672      *      0.509      *
*      111     *      1.000      *      0.646      *      0.354      *
*      112     *      0.685      *      0.393      *      0.292      *
*      113     *      0.397      *      0.226      *      0.171      *
*      114     *      6.028      *      6.013      *      0.015      *
*      115     *      0.497      *      -0.543     *      1.040      *
*      116     *      -0.036     *      -0.457     *      0.421      *
*      117     *      0.010      *      -0.132     *      0.142      *
*      118     *      0.117      *      0.101      *      0.016      *
*      119     *      6.744      *      6.719      *      0.025      *
*      120     *      1.827      *      1.665      *      0.162      *
*      121     *      2.877      *      2.876      *      0.001      *
*      122     *      -3.518     *      -3.218     *      -0.300     *
*      123     *      -2.582     *      -2.272     *      -0.310     *
*      124     *      -1.505     *      -1.340     *      -0.165     *
*      125     *      -0.611     *      -0.659     *      0.048      *
*      126     *      -0.263     *      -0.353     *      0.090      *
*      127     *      2.670      *      2.553      *      0.117      *
*      128     *      -0.642     *      -1.286     *      0.644      *
*      129     *      -0.890     *      -0.849     *      -0.041     *
*      130     *      4.202      *      5.075      *      -0.873     *
*      131     *      1.656      *      1.271      *      0.385      *
*      132     *      -0.683     *      -0.443     *      -0.240     *
*      133     *      -0.395     *      -0.157     *      -0.238     *
*****
```

*	134	*	0.959	*	0.780
*	135	*	0.438	*	0.469
*	136	*	-0.943	*	-0.876
*	137	*	-1.881	*	-1.874
*	138	*	3.939	*	4.763
*	139	*	1.675	*	1.564
*		*		*	

TABELA V-4 - Energia dos pontos calculados da interação ácido violúrico-água e o respectivo valor utilizando-se a expressão ajustada (coordenadas de cada ponto são disponíveis no Laboratório de Biofísica de São Carlos).

```

*****
*
*      PARÂMETROS DO POTENCIAL ÁGUA-ÁGUA      *
*
*****
*      a1 = 1088213.2      *      b1 = 5.152712      *
*****
*      a2 = 666.3373      *      b2 = 2.760844      *
*****
*      a3 = 1455.427      *      b3 = 2.961895      *
*****
*      a4 = 273.5924      *      b4 = 2.233264      *
*****
*      a.a=170.9389      *
*****
*      distância O-M      = 0.2677      *
*****
*      distância O-H      = 0.9572      *
*****
*      ângulo HOH      = 104.52 graus      *
*****

```

TABELA V-5 - Parâmetros do potencial de interação
 água-água (Expressão V-3).
 (Energia em Kcal/mol e distâncias em Å)

FIGURA V-1 - Direções adotadas no plano da molécula do ácido violúrico para o cálculo de interações água-ácido violúrico (cálculos "ab initio").

FIGURA V-2 - Alguns resultados das interações ácido violúrico (cálculos "ab initio").

FIGURA V-3

FIGURA V-3 - Definição das distâncias utilizadas na expressão V-3 (Potencial água-água).

VI - UTILIZACAO DO POTENCIAL 'AB INITIO' PARA A
=====

SIMULACAO DA ESTRUTURA DA AGUA NO ACIDO VIOLURICO

=====

Via - Introducao

Neste capítulo, comparamos a estrutura simulada da molécula de água no ácido violúrico monohidratado, utilizando os potenciais obtidos no quinto capítulo, com os resultados experimentais de difração de raio-X e neutrons (Craven e Mascarenhas, 1964).

Para a determinação desta estrutura, primeiramente, calculamos a energia de interação entre diversas moléculas do ácido violúrico com uma molécula de água. Esta interação foi calculada para diversos pontos do plano da molécula de ácido violúrico e os valores obtidos foram representados em curvas de isoenergia neste plano.

Em um segundo estágio, incluímos a interação água-água e realizamos, então, a simulação de Monte Carlo.

Uma rotação da molécula de água, mantendo seu oxigênio na posição cristalográfica, no plano do ácido violúrico, também foi realizada, de modo a podermos comparar o resultado com o poço de energia da figura IV-2, obtido pelo método PE.

Finalmente, um cálculo 'ab initio' de três moléculas do ácido violúrico e uma molécula de água foi feito para podermos realizar uma análise mais refinada das ligações

de hidrosênio bifurcadas.

VIh - Curvas de Isoenergia

Como já foi dito na introdução, neste item consideramos somente a interação entre uma molécula de água com diversas moléculas do ácido violúrico.

Durante o cálculo, utilizamos a seguinte geometria para o ácido violúrico:

1. Geramos um plano central ($x = 0.0$ Å) com quatro moléculas do ácido violúrico. A posição destas moléculas é a apresentada na figura I-1. Apesar de algumas moléculas estarem desenhadas incompletas nesta figura, nós as consideramos completas quando geramos o plano.
2. Geramos um plano superior e um plano inferior ao plano central, utilizando as condições de simetria do grupo espacial do ácido violúrico monohidratado. Cada um destes planos possui cinco moléculas de ácido violúrico de modo a cobrir completamente as quatro moléculas do plano central.

Dividimos, então, o plano central em uma rede quadrada (intervalos de 0.13 Å) e, em cada ponto da rede, o átomo de oxigênio da molécula de água foi colocado. A posição dos átomos de hidrogênio foi otimizada, através da minimização da energia de interação água-ácido violúrico, utilizando o potencial desenvolvido no quinto capítulo (a otimização é feita com uma precisão de cinco graus na orientação da molécula de água).

Com o valor da energia obtido para cada ponto, fizemos as curvas de isoenergia que estão apresentadas na figura VI-1. Não consideramos valores de energia superiores a 20 Kcal/mol.

Na tabela VI-1, comparamos a posição e a orientação da molécula de água, no mínimo da superfície de isoenergia, com os resultados obtidos por raio-X e neutrons. Como pode ser observado, a concordância entre a posição e a orientação computadas e as experimentais é satisfatória, apesar da baixa resolução exigida nestes cálculos. O valor da energia de interação, neste mínimo de energia, é de -20.4 Kcal/mol. É interessante lembrar, novamente, que o potencial água-ácido violúrico foi ajustado com um desvio padrão de 0.77 Kcal/mol e portanto, não tem sentido utilizar uma precisão superior a um algarismo depois do ponto para valores de energia.

Esta concordância nos informa que o efeito da interação água-água é relativamente pequeno e que o potencial água-ácido violúrico é razoavelmente suficiente, para a determinação da estrutura da água no cristal. Entretanto, nós ainda nada podemos dizer, neste estágio, sobre o efeito da inclusão da interação água-água.

Vic - Simulação de Monte Carlo

Foram considerados cinco planos de moléculas do ácido violúrico para esta simulação. Cada plano contém 5X5 moléculas do ácido violúrico com sua molécula de água, de acordo com o resultado de raio-X. Durante a simulação, as moléculas de água tiveram que permanecer em um paralelogramo de 13x37x35 Å para que as moléculas de água mais externas não "fossem embora". Outra observação importante é que, durante a simulação, as moléculas de ácido violúrico permaneceram fixas (posição cristalográfica) e, somente, permitiu-se movimento às moléculas de água.

Deve-se notar que a simulação de MC poderia ter sido realizada, utilizando-se condições periódicas de contorno. Isto poderia ter simplificado a simulação mas não teria constituído um teste, suficientemente forte, para a metodologia de Clementi (Clementi, 1980) uma vez que, como em muitos casos é impossível utilizar condições periódicas de contorno, Clementi tem sempre adotado uma aproximação de "Cluster".

Foram realizados trezentos e trinta mil ciclos durante a simulação. Duzentos mil ciclos foram utilizados para a estabilização térmica do sistema. Os cento e trinta mil restantes foram utilizados para o cálculo dos valores esperados desejados, apresentando os seguintes valores médios para a energia (média nos 130000 ciclos) :

$$E(\text{água-água}) = (-105 \pm 1) \text{ Kcal/mol}$$

$$E(\text{água-ácido violúrico}) = (-3673 \pm 3) \text{ Kcal/mol}$$

$$E(TOTAL) = (-3778 \pm 3) \text{ Kcal/mol}$$

Estas energias que acabamos de apresentar, referem-se à soma total das interações das 125 moléculas de água com as 125 moléculas de ácido violúrico e com elas mesmo. Como as moléculas de ácido violúrico são mantidas rígidas, interações ácido violúrico-ácido violúrico não são computadas.

É relevante mencionar que a temperatura, por nós utilizada durante a simulação, foi de trezentos graus Kelvin.

O critério de translação e rotação da molécula de água, utilizado durante a simulação, é semelhante ao apresentado no item IV-c, sendo que as coordenadas x, y e z do oxigênio da molécula de água variam, no máximo, 0.08 Å e a máxima rotação desta molécula é de 9 graus em cada ciclo.

VIId - Discussão dos Dados da Simulação

Todos os resultados apresentados, neste item, referem-se à molécula de água que se encontra no centro do "Cluster" de 5X5X5 moléculas de ácido violúrico.

A tabela VI-2 apresenta as coordenadas cristalográficas da molécula de água central, assim como a sua amplitude de vibração. A seguinte expressão é utilizada para calcular esta amplitude (desvio padrão) a partir do fator B de Debye-Waller (em geral anisotrópico):

$$(VI-1) \quad \overline{U^2} = B/8\pi^2$$

onde $\overline{U^2}$ é o quadrado do desvio padrão (Stout, 1968).

A tabela VI-2 apresenta, também, a posição média simulada da molécula de água central e seus respectivos desvios padrão. A concordância entre experimento e teoria, como pode ser observado na tabela VI-2, pode ser considerada excelente, uma vez que, dentro do desvio padrão, o resultado simulado concorda plenamente com o experimental. Uma comparação entre os desvios padrão obtidos por simulação e experimentalmente é muito difícil de ser feita pois, durante a simulação, as moléculas de água e do ácido violúrico foram mantidas rígidas. Entretanto, o que se pode concluir é que, apesar de termos mantido as moléculas rígidas, conseguimos obter um valor para B, para átomos da molécula de água, que é cerca de cinquenta por cento do valor experimental. Isto ocorre porque o B simulado inclui apenas vibrações térmicas de moléculas rígidas e não consegue incluir vibrações intramoleculares e eventualmente desordem, como proposto por Craven (Craven, 1964).

Poderíamos, também, ter feito uma comparação dos desvios padrão obtidos por simulação de Monte Carlo, utilizando o modelo PE (resultados apresentados no quarto capítulo), com o valor de R experimental. Entretanto, apesar dos desvios padrão simulados e experimentais serem da mesma ordem, esta análise não foi feita porque estes potenciais ainda não são suficientemente confiáveis, para termos considerações tão refinadas sobre os resultados com eles obtidos.

Para completar a análise desta interação água-ácido violúrico realizamos, como no item IVb, a rotação da molécula de água ao redor do eixo X (sentido de rotação apresentado na figura IV-1), mantendo o oxigênio na posição cristalográfica. Novamente, ocorre uma concordância entre teoria e experimento. É interessante notar que este poço de energia é relativamente chato na região de energias negativas, estourando, então, rapidamente na região repulsiva (Figura VI-2a).

Uma comparação entre este poço de energia e o equivalente obtido pelo modelo PE (figura IV-2) é apresentada na figura VI-2b. Colocamos os dois mínimos em uma posição coincidente, para podermos efetuar esta comparação. Em torno do mínimo de energia, os dois modelos apresentam resultados semelhantes, entretanto, quando comparamos as figuras IV-2 e VI-2a, notamos que o modelo de eletropolo polarizável é totalmente ineficiente nas regiões onde efeitos quânticos são importantes, isto é, quando ocorre sobreposição das funções de onda de um hidrogênio da molécula de água e do hidrogênio H(5) do ácido violúrico.

A energia de interação da molécula de água na posição cristalográfica pode ser dividida em duas partes :

1. Interação água-ácido violúrico = -36.4 Kcal/mol
2. Interação água-água = -1.0 Kcal/mol

Observando estes números, notamos que, realmente, a interação água-água é muito menor do que a interação água-ácido violúrico, conforme previsto no item VI-b.

VIe - Análise das ligações de hidrogênio bifurcadas

Observando os resultados obtidos, no item anterior, notamos que os potenciais desenvolvidos pelo método de Clementi conseguem representar muito bem a estrutura da molécula de água no ácido violúrico. Esta estrutura apresenta ligações de hidrogênio bifurcadas e, com a finalidade de verificar quão energética elas são, realizamos um cálculo "ab initio", utilizando três moléculas de ácido violúrico e uma molécula de água, todas na posição cristalográfica (figura VI-3). Para calcular a energia de cada ligação de hidrogênio, utilizamos a análise de energia de ligação proposta por Clementi e apresentada no item IIc (Clementi, 1980). É interessante lembrar que, nesta análise, a energia é dividida em duas partes :

1. Uma parte que é a energia de cada átomo hibridizado na molécula. A diferença entre esta energia e a do átomo livre é o MOVS do átomo.
2. A outra parte é a energia da ligação entre os átomos. Os valores desta energia para as ligações de hidrogênio é que discutiremos a seguir.

Os valores das energias de ligação de hidrogênio estão apresentados na tabela VI-3 e, para se ter uma base de comparação, apresentamos alguns valores de energia de ligações covalentes:

1. Energia da ligação $C(2)=O(2) = -0.643$ unidades atômicas (-404 Kcal/mol)

2. Energia da ligação N(1)-H(1) = -0.487 unidades atômicas (-305 Kcal/mol)

Analisando os valores obtidos, parece que existem cinco ligações de hidrogênio e não apenas quatro, como proposto por Craven (Craven, 1964). Acreditamos que a ligação de hidrogênio H(W1)...O(6) também deve ser considerada, apesar da energia de ligação, neste caso, não ser tão forte.

Bibliografía

1. CRAVEN, B.M. and MASCARENHAS, Y. - The Crystal Structure of Perdeuterated Violuric Acid Monohydrate: The X-ray Diffraction Analysis. Acta Cryst., 12:407-414, 1964.
2. CRAVEN, B.M. and TAKEY, W.J. - The Crystal Structure of Perdeuterated Violuric Acid Monohydrate: The Neutron Diffraction Analysis. Acta Cryst., 12:415-420, 1964.
3. CLEMENTI, E. - Computational Aspects for Large Chemical Systems. Berlin, Springer Verlag, 1980. (Lectures Notes in Chemistry, V.19)
4. STOUT, G.H. and JENSEN, L.H. - X-Ray Structure Determination. New York, MacMillan Company, c 1968

*	*	*	*	*	*	*	*
* ATOMO	* X(Å)	* ΔX(Å)	* Y(Å)	* ΔY(Å)	* Z(Å)	* ΔZ(Å)	*
*	*	*	*	*	*	*	*

*	POSICAO CRISTALOGRAFICA						*

*	*	*	*	*	*	*	*
* O(W)	* 0.000*	----	* 1.157*	0.11	* 3.717	* 0.19	*
*	*	*	*	*	*	*	*

*	*	*	*	*	*	*	*
* H(W1)	* 0.000*	----	* 1.907*	0.20	* 3.10	* 0.20	*
*	*	*	*	*	*	*	*

*	*	*	*	*	*	*	*
* H(W2)	* 0.000*	----	* 1.528*	0.19	* 4.58	* 0.19	*
*	*	*	*	*	*	*	*

*	MONTE CARLO						*

*	*	*	*	*	*	*	*
* O(W)	* -0.040*	0.203*	1.133*	0.045	* 3.715	* 0.111	*
*	*	*	*	*	*	*	*

*	*	*	*	*	*	*	*
* H(W1)	* 0.005*	0.249*	1.882*	0.112	* 3.229	* 0.140	*
*	*	*	*	*	*	*	*

*	*	*	*	*	*	*	*
* H(W2)	* -0.081*	0.275*	1.442*	0.115	* 4.583	* 0.110	*
*	*	*	*	*	*	*	*

TABELA VI-2 - Resultado da simulação de Monte Carlo utilizando os potenciais de interação água-ácido violúrico, desenvolvidos no capítulo V.

```

*****
*
*   DISTÂNCIAS E ENERGIAS DAS LIGAÇÕES DE HIDROGÊNIO   *
*
*****
*           *           *           *           *
*   LIGAÇÃO   *   DISTÂNCIA   *   ENERGIA   *
*           *   (Å)   *   (UNIDADES ATÔMICAS)*
*           *           *           *           *
*****
*           *           *           *           *
*   H(5)...O(W) *   1.54   *   -0.196   *
*           *           *   (-123 Kcal/mol) *
*****
*           *           *           *           *
*   H(W1)...O(4) *   1.82   *   -0.071   *
*           *           *   (-45 Kcal/mol) *
*****
*           *           *           *           *
*   H(W1)...O(6) *   2.66   *   -0.031   *
*           *           *   (-19 Kcal/mol) *
*****
*           *           *           *           *
*   H(W2)...O(6) *   2.07   *   -0.047   *
*           *           *   (-29 Kcal/mol) *
*****
*           *           *           *           *
*   H(W2)...O(5) *   2.10   *   -0.039   *
*           *           *   (-24 Kcal/mol) *
*****

```

TABELA VI-3 - Energias e distâncias das ligações de hidrogênio entre a molécula de água e a molécula de ácido violúrico.

FIGURA VI-1a - Curvas de isoenergias da interação ácido-ácido valínico. As curvas correspondem de fora para dentro a 20, 0, -5, -10, -15, -20 Kcal/mol (distâncias em Å).

FIGURA VI-1b - Representação tridimensional da figura VI-1a. A linha grossa corresponde a 0 Kcal/mol.

FIGURA VI-2a

FIGURA VI-2a - Rotação da molécula de água ao redor do eixo X, mantendo a posição do oxigênio fixa (O eixo X é o eixo perpendicular ao plano do ácido violúrico).

FIGURA VI-2b

FIGURA VI-2b - Rotação ao redor do eixo X - comparação entre o modelo PE e os potenciais tipo Clementi em torno do mínimo de energia.

FIGURA VI-3

FIGURA VI-3 - Configuração utilizada para calcular a energia das ligações de hidrogênio (os valores da energia nas ligações são dados em unidades atômicas).

VII - RESULTADOS PRELIMINARES DA INTERACAO

=====

AGUA - LISOZIMA

=====

VIIa - Introdução

Após realizarmos a simulação da estrutura da água no cristal de ácido violúrico monohidratado, utilizando os potenciais desenvolvidos pelo Método de Clementi, e conseguirmos uma boa concordância com a estrutura determinada experimentalmente, decidimos, então, utilizar potenciais desenvolvidos por este método para atacar problemas mais complicados mas, por sua vez, mais interessantes em biofísica.

O projeto inicial, por nós escolhido, foi tentar simular a estrutura da água dentro de uma cavidade que existe na lisozima, determinada por difração de raio-X por D. Phillips. Phillips encontrou quatro moléculas de água dentro desta estrutura e acreditamos ser este um problema interessante, pois apresenta um pequeno número de moléculas de água e permite verificação experimental.

A lisozima é uma enzima, encontrada na clara do ovo, que catalisa a hidrólise de certas ligações glicosídicas de complexos polissacarídeos que existem nas paredes de algumas bactérias. A cadeia da lisozima apresenta uma sequência de 129 amino-ácidos.

As coordenadas da lisozima, por nós utilizadas, foram obtidas por D. Phillips (Phillips, 1979) e são coordenadas de lisozima de clara de ovo de galinha. As coordenadas das moléculas de água, que se localizam dentro da cavidade, determinadas por raio-X, estão apresentadas na tabela VII-1. Uma cópia das coordenadas da lisozima encontram-se no Laboratório de Biofísica de São Carlos e são disponíveis a todos os interessados.

Como o desenvolvimento de um potencial de interação água-lisozima envolveria uma enorme disponibilidade computacional, para nós impossível atualmente, realizamos os cálculos utilizando potenciais já existentes na literatura, desenvolvidos por Clementi, apresentados como segue:

1. Potenciais de interação água - amino ácidos neutros (Clementi, 1977);
2. Potenciais de interação água - amino ácidos ionizados (Clementi, comunicação pessoal);
3. Potenciais de interação água-formil triglicil amida (Clementi, 1979). Na nossa opinião, a molécula de formil triglicil amida, contendo três unidades peptídicas, é suficientemente 'longa' para permitir uma aproximação razoável para o estudo da interação local da molécula de água com o esqueleto da proteína.

Os potenciais, para os três casos, foram ajustados em uma expressão da forma da expressão II-10, a mesma por nós utilizada para o ajuste dos potenciais de interação água-ácido violúrico. Devido à base que Clementi utilizou para os cálculos 'ab initio', no desenvolvimento destes potenciais, as NCHs do oxigênio e hidrogênios da molécula de água, em unidades atômicas, são -0.62210 e 0.31105

respectivamente.

O modo de como extrapolar estes potenciais, para a interação água-proteína, está descrita no próximo item.

Resultados preliminares da interação água-lisozima em solução já existem na literatura (Clementi, 1978).

VIIb - Resumo do que foi realizado

Até o presente momento, somente calculamos as curvas de isoenergia da interação água-lisozima. Como estamos interessados apenas nas quatro moléculas de água que se localizam dentro da cavidade da lisozima, utilizamos, somente, durante os cálculos, os aminoácidos que circundam esta cavidade.

Para determinar perfeitamente esta cavidade, são necessárias três partes da cadeia da lisozima. A cada uma destas partes adicionamos, por segurança, nas extremidades delas, os amino-ácidos seguintes da cadeia da lisozima. Para que cada uma destas partes se comportasse como uma cadeia polipeptídica independente colocamos, nas pontas de cada uma delas, um radical amida ou formil, dependendo destas pontas apresentarem um radical ácido ou amino respectivamente.

As três partes por nós utilizadas são:

1. Amino-ácidos 39 a 41 da cadeia da lisozima
2. Amino-ácidos 52 a 59 da cadeia da lisozima
3. Amino-ácidos 81 a 91 da cadeia da lisozima

Como dois destes amino-ácidos são ácido aspártico, que podem existir na forma neutra ou ionizada, realizamos cálculos com estes amino-ácidos nas duas formas.

Para a extrapolação dos potenciais de Clementi (potenciais água-amino ácidos e potenciais água-formil trislicil amida), para a interação água-proteína, devemos

utilizar o critério apresentado no item IIc e associar a átomos de mesma classe o mesmo potencial. Se observamos um peptídeo, em uma cadeia de proteína, a sua estrutura é a seguinte:

onde CA e HA são o hidrogênio e o carbono alfa e R é o radical do amino-ácido.

Podemos, então, concluir que, em uma proteína, os átomos do esqueleto devem possuir a mesma classe que os equivalentes no formil triglicil amida, assim como os átomos dos radicais devem possuir a mesma classe que os equivalentes nos amino-ácidos isolados. A deficiência desta extrapolação encontra-se nos hidrogênios e carbonos alfa, pois, na cadeia peptídica do formil triglicil amida, os carbonos alfa estão, sempre, ligados a hidrogênios alfa e não a um carbono beta e um hidrogênio alfa, como ocorre normalmente nos amino-ácidos (a glicina é uma exceção). Apesar disto, adotamos os carbonos e hidrogênios alfa como possuindo a mesma classe que os equivalentes no formil triglicil amida.

Para a realização dos cálculos, o procedimento, por nós adotado, foi o seguinte:

1. Acrescentamos os hidrogênios às coordenadas da lisozima de Phillips, para as três partes, utilizando para isto distâncias de ligação, ângulos de ligação e ângulos diedros padrões. Para acrescentar estes hidrogênios, utilizamos o programa Refine, de autoria de Hermens e colaboradores.

2. Os parâmetros A_{ij} , B_{ij} e C_{ij} adotados foram aqueles calculados para a interação água-amino ácidos, para os radicais dos amino ácidos e aqueles calculados para a interação água-formil trislicil amida, para o esqueleto da lisozima.

3. As NCHs de cada átomo foram obtidas da seguinte maneira :

1. Para os átomos dos radicais dos amino-ácidos, utilizou-se as NCHs que Clementi calculou, dos átomos equivalentes, para os amino-ácidos isolados.

2. Para os átomos do esqueleto da lisozima, utilizou-se as NCHs que Clementi calculou, dos átomos equivalentes, para o formil trislicil amida.

3. Para os carbonos e hidrogênios alfa, surge a dificuldade deles não serem nem átomos de um amino ácido isolado, e nem de uma glicina. Para resolver, aproximadamente, este problema, observamos que as NCHs do carbono alfa e dos hidrogênios alfa da glicina, na forma isolada e no formil trislicil amida, valem:

- Para o carbono alfa -0.33 no amino ácido isolado e -0.31 no formil trislicil amida (unidades atômicas);

- Para os hidrogênios alfa, em média, 0.20 no amino ácido isolado e 0.22 no formil trislicil amida (unidades atômicas).

Portanto, notamos que as NCHs dos carbonos e hidrogênios alfa da cadeia polipeptídica são,

lizeiramente, mais positivas que no amino ácido isolado. Então, o procedimento, por nós adotado, foi o seguinte: colocamos, para os carbonos e hidrogênios alfa, as cargas dos amino ácidos isolados; somamos todas as cargas de cada parte e obtivemos, como era esperado, valores pequenos e negativos; variamos, então, proporcionalmente, todas as NCHs dos carbonos e hidrogênios alfa, de modo que a soma final fosse nula (ou -1 para cada ácido aspártico que se encontrasse na forma ionizada).

4. Depois de determinados os potenciais de interação, realizamos as curvas de isoenergia para diferentes planos da lisozima (planos de coordenada z fixa). No cálculo das curvas de isoenergia só se considerou a interação água-lisozima. O procedimento adotado, para o cálculo destas curvas, foi o mesmo descrito no item VIb. A distância entre pontos da rede é de 0.5 Å e, para cada ponto, a orientação da molécula de água foi otimizada com uma precisão de cinco graus.

Os resultados obtidos, para a lisozima neutra, estão apresentados nas figuras VII-1a até VII-1j. Observando estes planos de curvas de isoenergia, na sequência, verificamos, realmente, a existência desta cavidade e a possibilidade das moléculas de água se encontrarem nas coordenadas previstas por Phillips (tabela VII-1). Uma única ressalva é que a cavidade, em que se situa a molécula de água número quatro, parece estar separada da cavidade em que se encontram as outras três.

Todas as conclusões, apresentadas neste item, baseiam-se em considerações energéticas, isto é, se dissermos que existe uma cavidade é porque a interação

Água-lisozima daquela resíduo é atrativa, e se dissemos que duas cavidades estão separadas é porque existe uma barreira repulsiva entre elas. O mínimo de energia da resíduo onde se situam as águas número um e número dois é um pouco inferior a -20 Kcal/mol e o das resíduos onde se situam as águas três e quatro é um pouco inferior a -10 Kcal/mol.

Os resultados, dos planos mais importantes, obtidos com os ácidos aspárticos ionizados encontram-se nas figuras VII-2a até VII-2d e podemos notar que são muito semelhantes aos obtidos com a lisozima neutra. Apenas algumas resíduos externas à lisozima são um pouco mais atrativas, quando os ácidos aspárticos encontram-se ionizados.

VIIc - O que se pretende fazer

Estes resultados obtidos são apenas preliminares e o que se deve realizar agora é o seguinte:

1. Incluir a interação água-água e, através de simulações de Monte Carlo, verificar quantas moléculas de água podem existir dentro da cavidade, em que coordenadas e com que energia.
2. Permitir rotação aos radicais OH (variação do ângulo diedro, mantendo a distância e o ângulo de ligação fixos) durante a simulação de Monte Carlo e verificar o quanto isto altera os resultados obtidos com eles fixos.

Bibliografia

1. PHILLIPS, D. - Coordenadas da Lisozima de Clara de Ovo de Galinha. comunicação pessoal, 1979. Valores desta coordenadas estão disponíveis no Laboratório de Biofísica de São Carlos.
2. CLEMENTI, E. et al - Analytical Potentials from 'ab Initio' Computations for the Interaction between Biomolecules. I. Water with Amino Acids. J. Am. Chem. Soc., 99(17):5531-5545, Aug., 1977.
3. RANGHINO, G. and CLEMENTI, E. - Lysine, Arginine, Glutamate and Aspartate Ions in Solution. comunicação pessoal.
4. CLEMENTI, E. et al - Analytical Potentials from 'ab Initio' Computations for the Interaction between Biomolecules. VI. Formil-Triglycyl Amide and Water. J. Chem. Phys., 70(02):1040-50, Jan., 1979.
5. RANGHINO, G. and CLEMENTI, E. - Enzyme-Water Interaction in Solution and Other Properties Related to Computed Net Charges. Gazz. Chim. Ital., 108:157-170, 1978.
6. HERMANS, J. et al - Refine Program - Dept. of Biochemistry, University of North Carolina, Chapel Hill, N.C. 27514 (Existe uma cópia deste programa no Laboratório de Biofísica de São Carlos, mas ele ainda não se encontra transferido para o VAX 11/780).

FIGURA VII-1a - Curvas de isoenergias da interação água-lisozima neutra - plano $z = 14$ Å. As curvas correspondem, de fora para dentro, a 20, 0, -5, -10, -15 e -20 Kcal/mol (distâncias em Å).

FIGURA VII-1b - Curvas de isoenergias da interação ássua- lisozima neutra - plano $z = 15$ Å. As curvas correspondem, de fora para dentro, a 20, 0, -5, -10, -15 e -20 Kcal/mol (distâncias em Å).

FIGURA VII-1c - Curvas de isoenergias da interação água-lisozima neutra - plano $z = 16$ Å. As curvas correspondem, de fora para dentro, a 20, 0, -5, -10, -15 e -20 Kcal/mol (distâncias em Å).

FIGURA VII-1d - Curvas de isoenergia da interação água-lisozima neutra - Plano $z = 17$ Å. As curvas correspondem, de fora para dentro, a 20, 0, -5, -10, -15 e -20 Kcal/mol (distâncias em Å).

FIGURA VII-1e - Curvas de isoenergia da interação água-lysozima neutra - plano $z = 18$ Å. As curvas correspondem, de fora para dentro, a 20, 0, -5, -10, -15 e -20 Kcal/mol (distâncias em Å).

FIGURA VII-1f - Curvas de isoenergia da interação água-lysozima neutra - plano $z = 19$ Å. As curvas correspondem, de fora para dentro, a 20, 0, -5, -10, -15 e -20 Kcal/mol (distâncias em Å).

FIGURA VII-18 - Curvas de isoenergia da interação água-lisozima neutra - plano $z = 20$ Å. As curvas correspondem, de fora para dentro, a 20, 0, -5, -10, -15 e -20 Kcal/mol (distâncias em Å).

FIGURA VII-1h - Curvas de isoenergia da interação água- lisozima neutra - plano $z = 21$ Å. As curvas correspondem, de fora para dentro, a 20, 0, -5, -10, -15 e -20 Kcal/mol (distâncias em Å).

FIGURA VII-11 - Curvas de isoenergias da interação água-lisozima neutra - plano $z = 22$ Å. As curvas correspondem, de fora para dentro, a 20, 0, -5, -10, -15 e -20 Kcal/mol (distâncias em Å).

FIGURA VII-1j - Representação tridimensional da figura VII-1f - $z = 19$ Å. A linha grossa corresponde a 0 Kcal/mol.

FIGURA VII-2a - Curvas de isoenergia da interação água- lisozima ionizada - plano $z = 17$ Å. As curvas correspondem, de fora para dentro, a 20, 0, -5, -10, -15 e -20 Kcal/mol (distâncias em Å).

FIGURA VII-2b - Curvas de isoenergia da interação água-lysozima ionizada - plano $z = 19$ Å. As curvas correspondem, de fora para dentro, a 20, 0, -5, -10, -15 e -20 Kcal/mol (distâncias em Å).

FIGURA VII-2c - Curvas de isoenergia da interação água- lisozima ionizada - plano $z = 20$ Å. As curvas correspondem, de fora para dentro, a 20, 0, -5, -10, -15 e -20 Kcal/mol (distâncias em Å).

FIGURA VII-2d - Representação tridimensional da figura VII-2b - $z = 19$ Å. A linha grossa corresponde a 0 Kcal/mol.

VIII - CONCLUSÕES FINAIS

=====

A simulação da estrutura da água no ácido violúrico, tanto a partir dos potenciais de eletropolo polarizável como a partir de potenciais mais refinados, obtidos por métodos "ab initio", leva a resultados razoavelmente concordantes com aqueles experimentais obtidos por difração de raio-X e neutrons. Em ambos os métodos, pode-se verificar as características mais importantes da estrutura, tais como as ligações de hidrogênio bifurcadas.

O método de Clementi permite uma análise mais detalhada, em particular sob o ponto de vista energético, das regiões em que as interações quânticas se tornam importantes, isto é, onde ocorre sobreposição das funções de onda. Nestas regiões, o modelo de eletropolo polarizável torna-se totalmente ineficiente, uma vez que a expansão em multipolos da distribuição de cargas não representa mais a situação física real.

Uma análise cuidadosa do modelo de eletropolo polarizável, para a interação água-água, foi realizada no segundo capítulo e chegou-se à conclusão que, para pequenas distâncias entre as moléculas de água, a energia eletrostática não pode ser representada pela expansão em multipolos.

Uma outra dificuldade encontrada, na utilização do modelo PE, está em como se obter parâmetros de Lennard-Jones para sistemas heteroatômicos. Uma análise desta dificuldade está apresentada nos terceiro e quarto capítulos e a ausência destes parâmetros é que torna os

nossos resultados da simulação água-ácido violúrico, obtidos por este método, ainda muito limitados. Portanto se, sob o ponto de vista metodológico, o modelo de eletropolo polarizável pode ser considerado mais simples do que o de Clementi, ele apresenta estas duas limitações que necessitam ser eliminadas, a fim de que este modelo se torne realmente útil para simular sistemas de interesse biológico.

Os resultados principais, obtidos pelo modelo de eletropolo polarizável, podem ser assim resumidos:

1. Apesar da distância O(W)-H(S) ser mais curta 0.2 Å do que a prevista experimentalmente, apesar de utilizarmos parâmetros de Lennard-Jones arbitrários, a simulação de Monte Carlo, utilizando estes potenciais, conseguiu reproduzir razoavelmente a posição e a orientação da molécula de água, no cristal de ácido violúrico monohidratado. Isto se deve, provavelmente, ao fato da energia eletrostática ser dominante em relação aos demais termos da energia total.
2. A orientação da molécula de água pode ser muito bem definida por este modelo, mantendo-se o oxigênio fixo e efetuando-se rotações da molécula de água.

O método de Clementi é, indiscutivelmente, superior ao de eletropolo polarizável, entretanto, ele apresenta uma limitação, não de ordem física mas de ordem prática, devida às existências computacionais.

Os resultados principais, obtidos pelo método de Clementi e apresentados nos quinto e sexto capítulos, podem ser assim resumidos:

1. Há muita boa concordância entre a simulação e os resultados experimentais na determinação da estrutura da molécula de água no ácido violúrico;
2. De maneira similar ao que foi realizado pelo modelo PE, a orientação da molécula de água pode ser muito bem definida por este modelo, mantendo-se o oxigênio fixo e efetuando-se rotações da molécula de água.
3. Pela simulação, encontramos valores de desvios padrão que correspondem, pela expressão VI-1, ao fator B de Debye-Waller. Este resultado inclui cerca de cinquenta por cento do valor de B experimental (para átomos da molécula de água) e pode ser atribuído a efeitos de vibrações térmicas de moléculas rígidas. Os efeitos restantes seriam vibrações intramoleculares e eventualmente desordem, como proposto por Craven (Craven, 1964).
4. A análise energética, utilizando a análise de energia proposta no segundo capítulo, das ligações de hidrogênio da interação água-ácido violúrico leva à proposição de uma quinta ligação de hidrogênio, O(6)...H(W1), não considerada nos resultados experimentais, em virtude da distância oxigênio-hidrogênio ser muito grande (2,66 Å).

Como já foi discutido no primeiro capítulo, o ácido violúrico foi, por nós, escolhido por ser um exemplo-teste inicial para os potenciais que gostaríamos de extrapolar para sistemas maiores, devido ao fato de apresentar a estrutura totalmente resolvida por raios-X e neutrons, por ser um sistema não muito grande para efeito de cálculos e por apresentar uma estrutura interessante com ligações de hidrogênio bifurcadas. Em virtude da concordância, entre teoria e experimento, poder ser considerada boa, devemos

agora atacar sistemas de maior interesse biológico, tais como interação da água com macromoléculas (proteínas, polissacarídeos e polinucleotídeos). Trabalho neste sentido já vem sendo realizado e os resultados preliminares da interação da água com lisozima estão apresentados no sétimo capítulo.

O método, por nós adotado, para atacar sistemas maiores, consiste em utilizar um conjunto coerente de potenciais, já desenvolvidos por Clementi (Clementi, 1980), para obter as propriedades que desejamos deste sistema. Acreditamos ser este um procedimento adequado, uma vez que o desenvolvimento destes potenciais envolveria um alto custo computacional, que vai além das nossas possibilidades atuais.

Além de atacar sistemas maiores apresentamos, também, algumas outras sugestões para trabalhos futuros:

1. simulação de clatratos: sistemas estes que já possuem alguns resultados, ainda muito simples, de simulação pelo Método de Monte Carlo (Tester, 1972);
2. Utilizando o conjunto de potenciais, por nós adotado (desenvolvido por Clementi), verificar seu comportamento para diversas estruturas, onde já existam resultados cristalográficos muito bem definidos da estrutura da água;
3. Simulação do estado de bioletreto, através da inclusão de um campo elétrico como uma perturbação dos potenciais de interação;
4. Implantação em São Carlos do método de Dinâmica Molecular, para complementar o método de Monte Carlo, quando desejarmos obter alguma propriedade dinâmica do sistema em estudo.

Como julgamos que uma das contribuições da presente dissertação foi a implantação do pacote de programas necessários para estes cálculos, achamos de interesse tecer algumas considerações sobre ele, de modo que facilite o seu uso para futuros interessados:

a) Cálculos Quânticos Moleculares- Para estes cálculos existem os seguintes programas:

1. CINDOM, de autoria de Bruns, para cálculos semi-empíricos CNDO e INDO. Foi utilizado para o cálculo das cargas do ácido violúrico apresentadas no quarto capítulo. Não apresenta muitas exigências de memória e utilizou cerca de cinco minutos de CPU (Unidade Central de Processamento) para o cálculo das cargas do ácido violúrico, tanto por CNDO como por INDO, no computador do Instituto de física de São Carlos que é um VAX-11/780 com 1.5 Mb de memória física.
2. ATOMIC e IBMOL, de autoria de Clementi, para cálculos "ab initio". Quando se utiliza o programa IBMOL é necessário que se faça uma análise do tempo de CPU e espaço de memória requerido para a realização do cálculo. Por exemplo, no caso da interação água-ácido violúrico, o cálculo de cada ponto, apresentado na tabela V-4, levou cerca de meia hora em um sistema IBM-370 (Processador 3033). Só para efeito de comparação, este sistema é cerca de dez vezes mais rápido que o nosso VAX 11/780.

b) Método de Monte Carlo - Para estes cálculos dispomos de dois programas:

1. Para simulações, utilizando o modelo de eletropolo polarizável, existe o programa de autoria de Barnes e que foi totalmente otimizado para o VAX 11/780. É necessário tecer-se considerações sobre o tempo de CPU que será necessário, antes de se iniciar uma simulação. No nosso caso, água-ácido clorídrico, utilizamos cerca de 23 segundos por ciclo.
2. Para simulações, utilizando o método de Clementi, dispomos de um programa de sua autoria. Antes de se iniciar a simulação deve se fazer considerações sobre o espaço de memória e o tempo de CPU necessários. No nosso caso, resultados apresentados no capítulo seis, gastamos cerca de meio segundo por ciclo e, durante duzentos mil ciclos de simulação, necessitamos para o armazenamento de dados de 10 Mb de memória de disco.

c) Outros Programas :

1. GIOMAP - de autoria de Clementi e utilizado para calcular curvas de isoenergia.
2. FITTING - de autoria de Clementi e utilizado para ajustar os potenciais desenvolvidos pelo método de Clementi.
3. REFINE - de autoria de Hermans, muito usado em cristalografia e foi por nós utilizado para colocar os hidrogênios na lisozima.

Todos estes programas e os respectivos manuais de instrução encontram-se em nosso laboratório, disponíveis a todos os interessados.

Bibliografia

1. CRAVEN, B.M. and TAKEY, W.J. - The Crystal Structure of Perdeuterated Violuric Acid Monohydrate: The Neutron Diffraction Analysis. Acta Cryst., 12:415-420, 1964.
2. CLEMENTI, E. - Computational Aspects for Large Chemical Systems. Berlin, Springer Verlag, 1980. (Lectures Notes in Chemistry, V.19)
3. TESTER, J.W.; BIVINS, R.L.; HERRICK, C.C. - Use of Monte Carlo in Calculating the Thermodynamic Properties of Water Clathrates. AIChE J., 18(6):1220-30, nov., 1972.