

UFRRJ

INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
QUÍMICA**

FÍSICO-QUÍMICA

DISSERTAÇÃO

**Estudo conformacional da metilfosfocolina como
um protótipo para a parte hidrofílica de
fosfolipídios**

Cinthia Santos Soares

2009



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
FÍSICO-QUÍMICA

ESTUDO CONFORMACIONAL DA METILFOSFOCOLINA COMO
UM PROTÓTIPO PARA A PARTE HIDROFÍLICA DE
FOSFOLIPÍDIOS

CINTHIA SANTOS SOARES

Sob a orientação da Professora
Clarissa Oliveira da Silva

E Co-orientação do Professor
Emerson Guedes Pontes

Dissertação submetida como
requisito parcial para obtenção do
grau de **Mestre em Química**, no
programa de Pós-Graduação em
Química, Área de concentração
em Físico-Química

Seropédica, RJ
Agosto de 2009

541.22

S676e

T

Soares, Cinthia Santos, 1984 -
Estudo conformacional da
metilfosfocolina como um
protótipo para a parte
hidrofílica de fosfolipídios /
Cinthia Santos Soares. - 2009.
102 f.: il.

Orientador: Clarissa Oliveira
da Silva.

Dissertação (mestrado) -
Universidade Federal Rural do Rio
de Janeiro, Curso de Pós-
Graduação em Química.

Bibliografia: f. 94-97.

1. Estrutura molecular -
Teses. 2. Físico-química - Teses.
3. Células - Membranas - teses.
4. Preservação de órgãos,
tecidos, etc. - Teses. I. Silva,
Clarissa Oliveira da, 1970 -. II.
Universidade Federal Rural do Rio
de Janeiro. Curso de Pós-
Graduação em Química. III.
Título.

Bibliotecário: _____

Data: ___/___/___

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

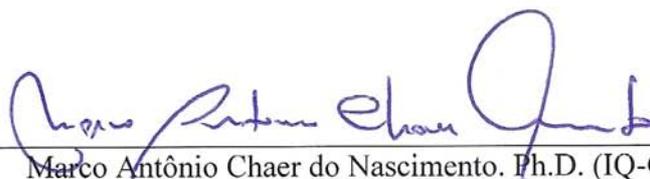
CINTHIA SANTOS SOARES

Dissertação submetida como requisito para obtenção do grau de Mestre em Química, no curso de Pós-Graduação em Química, área de concentração em Físico-Química.

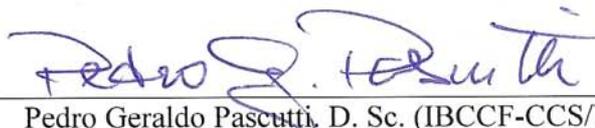
Dissertação aprovada em 26 / 08 / 09



Clarissa Oliveira da Silva. D. Sc. (Dequim-ICE/UFRJ)
(Orientadora)



Marco Antônio Chaer do Nascimento. Ph.D. (IQ-CCMN/UFRJ)



Pedro Geraldo Pascutti, D. Sc. (IBCCF-CCS/UFRJ)

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho de Dissertação a meu
único Senhor, Jesus Cristo, que me tem
fortalecido e encorajado a cada momento,
pois Ele, mais que ninguém, bem sabe de
minhas dificuldades e anseios.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a meus pais, Inez Bezerra Santos Soares e Adel Soares (*in memoriam*), por todo o carinho, dedicação e empenho para que eu me tornasse, antes de tudo, uma pessoa de bem; consciente de meus deveres e obrigações como cristã e cidadã desta Pátria. À minha mãe, Inez, todo o meu amor e devoção. Não sei o que seria de mim sem esta que tem sido a mais real e palpável presença do amor materno da Mãe Maria aqui na terra...

Agradeço também a Roberto Leonardo Cerveira de Oliveira; meu noivo, irmão e amigo, que muito soube me compreender (e tem sabido) durante esta longa trajetória de formação acadêmica.

Aos familiares e amigos, o meu agradecimento por todas as orações feitas em meu favor, pela compreensão em ocasião das minhas freqüentes ausências, pelos votos de “força, coragem, siga em frente, Deus está contigo!”... Agradeço em especial aos amigos Renato Vieira e Renato Jonas, que tanto me incentivam e me fazem acreditar, em cada fala, que é possível; é possível sonhar e realizar (mesmo que às custas, muitas vezes, de uma renúncia amarga, porém muito fecunda). Renato(s), que Deus os abençoe!

Agradeço, é claro, à “minha” orientadora e amiga, Prof^a Clarissa Oliveira da Silva, por ser exemplo de pesquisadora, de professora..., por ser exemplo de gente, no seu sentido mais genuíno... Clarissa, o meu carinho por você é muito especial; você tem feito parte da minha vida, de verdade! Muito abrigada por todas as oportunidades!

Finalizo agradecendo a todo o Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

RESUMO

SOARES, Cinthia Santos. **Estudo conformacional da metilfosfocolina como um protótipo para a parte hidrofílica de fosfolipídios**. Dissertação (Mestrado em Química, Físico-Química). Instituto de Ciências Exatas, Departamento de Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2009.

O crescente avanço das tecnologias de transplante de órgãos e tecidos - que se baseiam, entre outros aspectos, na manutenção das estruturas celulares que os compõem, tem motivado a busca por técnicas mais eficientes de preservação destes materiais. Sendo assim, existe uma grande demanda por compostos capazes de conservar órgãos e tecidos por um maior período de tempo. Neste contexto, tem-se avaliado a utilização do dissacarídeo trealose como agente protetor nestes processos, dada a sua conhecida capacidade de estabilizar materiais biológicos em diferentes condições de estresse. Diversos estudos de química teórica têm sido feitos a fim de tentar elucidar possíveis mecanismos através dos quais a trealose confere proteção a materiais biológicos durante períodos de estresse, com particular interesse no processo de desidratação. No entanto, as descrições teóricas utilizadas parecem não ser muito adequadas para o tratamento de sistemas deste tipo, onde interações de natureza eletrostática parecem ser responsáveis pela interação trealose-membrana celular. Sendo assim, neste trabalho, propõe-se um protótipo de membrana fosfolipídica que representa a porção hidrofílica de fosfolipídios de membrana potencialmente capaz de descrever as superfícies celulares, uma vez que acredita-se que as interações trealose-membrana se estabeleçam, basicamente, entre este dissacarídeo e as porções hidrofílicas dos fosfolipídios. Sabendo que para sistemas como este, com forte separação de cargas, os efeitos de correlação eletrônica não podem ser negligenciados, utilizou-se um método quanto-mecânico, baseado na Teoria do Funcional da Densidade, para a descrição desta porção de fosfolipídio. Através de cálculos B3LYP/6-31G(d,p), realizou-se o estudo conformacional dos ângulos α_1 , α_2 , α_3 , α_4 e α_5 da metilfosfocolina, tanto em fase gasosa como em solução. Mapas conformacionais foram obtidos para o sistema isolado e solvatado, e as conformações mais estáveis encontradas a partir destes mapas.

Palavras-chave: membrana celular, cabeça fosfolipídica, Teoria do Funcional da Densidade.

Abstract

The search for better conditions to preserve biomaterials to transplantation has received attention in the last years, and the efficiency of trehalose has been proven in many experiments, due to its particular capability to stabilize living organisms, frequently under environmental stress. Several studies in theoretical chemistry has been performed, trying to elucidate such protection mechanism, when particularly related to dehydration. However, the theoretical descriptions used seem not to be suitable to these systems, where electrostatic interactions are determining. Therefore, in this work, a phosphocholine molecule is studied, since it can be considered a very good prototype of the hydrophilic portion of the phospholipids membrane. The hydrophilic portion is the location where the interaction trehalose-membrane is supposed to happen. For systems like that, where a molecular charge separation is present, electronic correlation effects have to be considered. B3LYP/6-31G(d,p) calculations were performed in a conformational study where dihedral angles α_1 , α_2 , α_3 , α_4 and α_5 of phosphocholine were scanned in the gas-phase and aqueous solution. Conformational maps were obtained for the isolated and solvated system, and the most stable conformations found from these maps.

Keywords: cell membrane, phospholipidic head, Density Functional Theory.

ÍNDICE

1 INTRODUÇÃO	17
2 FUNDAMENTOS TEÓRICOS	25
2.1 A Teoria do Funcional da Densidade.....	25
2.1.1 A equação de Schorödinger.....	25
2.1.2 A densidade eletrônica.....	27
2.1.2.1 A densidade eletrônica como variável básica.....	28
2.1.3 Os teoremas de Hohenberg-Kohn (HK).....	28
2.1.3.1 O teorema da existência de HK.....	28
2.1.3.2 O teorema variacional de HK.....	30
2.1.4 A aproximação da ‘busca restrita’.....	30
2.1.5 As equações de Kohn-Sham.....	31
2.1.6 Funcionais de troca e correlação.....	34
2.1.7 Funcionais híbridos - o funcional B3LYP.....	38
2.2 A lei de distribuição de Boltzmann.....	39
2.2.1 A Mecânica Estatística.....	39
2.2.2 Entropia.....	39
2.2.3 Lei de distribuição de Boltzmann.....	40
2.3 Obtenção teórica de propriedades termodinâmicas.....	42
2.3.1 A função de partição Q.....	42
2.3.1.1 Q para subsistemas independentes e dintiguíveis.....	42
2.3.2 Obtenção da propriedade termodinâmica entropia a partir de Q... 43	
2.3.3 Correções térmicas para a energia interna de um sistema.....	45
2.4 A descrição de sistemas solvatados.....	47
3 METODOLOGIA	49
3.1 Quando ao nível de teoria.....	49
3.2 Quanto à análise conformacional.....	50
3.2.1 Obtenção das superfícies de energia potencial.....	50
3.2.2 Análise conformacional da ligação C4–C5.....	51
3.3 Sistemas solvatados.....	52
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
4.1 Fase gasosa.....	53
4.2 Solução aquosa.....	70
4.2.1 Aproximação 1.....	70
4.2.2 Aproximação 2.....	70
4.2.3 Aproximação 3.....	77
4.3 Comparação com outros trabalhos e dados experimentais.....	89
5 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	92
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	94
7 ANEXOS	98
ANEXO A	98
ANEXO B	99

ANEXO C	100
ANEXO D	101
ANEXO E	102

ÍNDICE DE TABELAS

- Tabela 1. Valores dos ângulos diedro α_3 e α_4 , em graus, que correspondem às regiões de mais baixa energia identificadas como **1**, **2**, **3** e **4**, no mapa conformacional da Figura 6.....54
- Tabela 2. Valores otimizados para os principais parâmetros geométricos associados à variação conformacional para a metilfosfocolina. Os seguintes valores somente levam em consideração a variação de energia proveniente da variação dos ângulos diedro α_3 e α_4 . Os valores de ângulos estão em graus e as energias e entropia relativas em kcal/mol e cal/mol K, respectivamente. Os valores de partida para os ângulos diedro α_1 , α_2 e α_5 em cada uma das estruturas reportadas nesta Tabela são 74, 284 e 64°, respectivamente.....55
- Tabela 3. Conjuntos de parâmetros α_1 , α_2 , α_3 e α_4 que minimizam a energia para a metilfosfocolina em fase gasosa. Os valores de ângulos diedros são reportados em graus e as energias e entropia relativas são dadas em kcal/mol e cal/mol K, respectivamente (B3LYP/6-31G(d,p)).....59
- Tabela 4. Valores de energia e entropia relativa obtidos através da variação sistemática do ângulo diedro α_5 para cada um dos confôrmeros pertencentes ao conjunto de conformações cujos parâmetros α_1 , α_2 , α_3 e α_4 minimizam a energia do sistema. Os valores de energia e entropia relativa estão em kcal/mol e cal/mol K, respectivamente. As populações de Boltzmann estão em porcentagem. Os resultados reportados nesta Tabela são referentes ao processo de otimização completa de geometria utilizando os conjuntos de funções de base 6-31G(d,p) e 6-311++(d,p), DZ e TZ, respectivamente.....63
- Tabela 5. Conjunto de confôrmeros estáveis em fase gasosa reotimizados em nível B3LYP/6-31G(d,p), sendo o “grid” de integração “maximum” aquele utilizado para a avaliação dos termos de troca e correlação. A fim de mais facilmente comparar-se os respectivos valores para ambos os “grids” de integração (“medium” e “maximum”), também são reportados os respectivos valores obtidos com o “grid” de integração “medium” (Tabela 4, DZ). Os valores de energia e entropia relativa e de população de Boltzmann estão em kcal/mol, cal/mol K e porcentagem, respectivamente. Nesta Tabela, as terminologias Med e Max referem-se aos “grids” de integração “medium” e “maximum”, respectivamente.....66
- Tabela 6. Solvatação “single-point” segundo o PCM dos confôrmeros pertencentes ao conjunto final de conformações estáveis em fase gasosa (Tabela 4, DZ). Os valores de energia e entropia relativa, bem como de população de Boltzmann estão em kcal/mol, cal/molK e porcentagem, respectivamente (B3LYP/6-31G(d,p)).....71
- Tabela 7. Valores de energia e entropia relativa para os confôrmeros otimizados em solução segundo o modelo IEFPCM, em kcal/mol e cal/molK, respectivamente (B3LYP/6-31G(d,p)).....73
- Tabela 8. Parâmetros geométricos α_3 e α_4 otimizados em solução segundo o modelo de solvatação IEFPCM para cada um dos confôrmeros correspondentes às oito regiões de energia mínima identificadas no mapa conformacional da Figura 20. Os valores entre

parênteses representam os valores de partida para estes parâmetros e os respectivos ângulos diedros estão em graus.....79

Tabela 9. Valores de energia e entropia relativa (em kcal/mol e cal/molK, respectivamente) e população de Boltzmann (em porcentagem) para os confôrmeros reportados na Tabela 8.....79

Tabela 10. Valores de energia (kcal/mol) e entropia (cal/molK) relativa para os confôrmeros solvatados e completamente otimizados em solução provenientes do mapa conformacional em fase gasosa (Figura 6).....81

Tabela 11. Valores de energia e entropia relativa (em kcal/mol e cal/molK) e de população de Boltzmann (em porcentagem) para os confôrmeros provenientes das curvas de energia potencial apresentadas na Figura 22.....84

Tabela 12. Valores de população de Boltzmann para o conjunto de confôrmeros composto por todas as conformações listadas na Tabela 11. Os valores de energia relativa estão em kcal/mol e aqueles de população de Boltzmann em porcentagem.....85

Tabela 13. Valores de energia e entropia relativa (kcal/mol e cal/molK) e população de Boltzmann (porcentagem) para os confôrmeros provenientes da avaliação de $\alpha 5$ em cada uma das conformações da Tabela 12.....87

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1. Micrografia eletrônica da membrana celular de células vermelhas de sangue humano (extraída e adaptada da referência 2).....17
- Figura 2. Modelo de mosaico fluido para membranas celulares. As membranas celulares são bicamadas de moléculas de fosfolipídios nas quais moléculas de proteína são inseridas e funcionam como canais de transporte seletivo (extraída e adaptada da referência 4).....18
- Figura 3. (a) Os fosfoglicerídios são derivados do glicerol 3-fosfato (em vermelho), através da esterificação deste por duas moléculas de ácido graxo (que constituem sua parte hidrofóbica) e pela inserção de um grupo polar ao grupo fosfato (que constitui sua parte hidrofílica ou, como comumente referenciado, sua cabeça fosfolipídica). Os fosfoglicerídios são classificados de acordo com a molécula de álcool esterificada ao grupo fosfato, PE: fosfatidiletanolamina, PC: fosfatidilcolina e PS: fosfatidilserina. (b) Esfingolipídios são derivados da esfingosina (em vermelho), um aminoálcool que contém uma longa cadeia hidrocarbônica. As esfingomielinas (SM) que contém um grupo polar fosfato também pertencem à classe de lipídios denominada fosfolipídios (extraída e adaptada da referência 6).....19
- Figura 4. Metilfosfocolina: protótipo de cabeça fosfolipídica de fosfolipídios de colina. Ao lado, são reportados os principais parâmetros geométricos que conferem variação conformacional a este sistema (geometria não otimizada). Figura gerada através do programa Gauss View, em sua versão 2.1 (como todas as outras a seguir apresentadas).....49
- Figura 5. (a) Estrutura reportada por Landin e colaboradores³² como aquela mais estável em fase gasosa, otimizada em nível HF/6-31+G(d). (b) Estrutura de partida para a construção de mapa conformacional. Esta estrutura provém da otimização de geometria, em nível B3LYP/6-31G(d,p), da conformação reportada por Landin e colaboradores. A tabela apresenta os valores dos parâmetros geométricos avaliados por Landin e colaboradores em sua busca conformacional. Nesta Figura, também são apresentadas as distâncias entre os átomos de H de dois dos grupamentos metila ligados ao átomo de N e os átomos de O não esterificados do grupo fosfato.....53
- Figura 6. Mapa conformacional relaxado em fase gasosa para a variação sistemática dos ângulos diedros α_3 e α_4 , em graus, B3LYP/6-31G(d,p), com 144 pontos interpolados. Os valores de energia relativa estão em kcal/mol.....54
- Figura 7. Conformações estáveis em fase gasosa para a metilfosfocolina, quando se considera a variação sistemática dos ângulos diedros α_3 e α_4 e suas respectivas populações de Boltzmann. A numeração 1, 2 e 3 é referente às conformações da Tabela 2.....56
- Figura 8. Confôrmers 2 e 3, respectivamente. As setas curvas indicam a variação do ângulo diedro α_457
- Figura 9. Mapas conformacionais relaxados para o confôrmere 1 (a), 2 (b) e 3 (c). Em todos os mapas foram mantidos fixados os respectivos valores de ângulos diedro α_3 e

$\alpha 4$. Os valores de energia relativa estão em kcal/mol.....58

Figura 10. Populações de Boltzmann calculadas para os confôrmeros provenientes da análise conformacional que investiga a influência da variação dos parâmetros $\alpha 1$ e $\alpha 2$ sobre a energia do sistema. As conformações **A** e **B** também possuem ligações hidrogênio intramolecular (não representadas), segundo o respectivo padrão presente nas conformações **1**, **2** e **3**, da Figura 7, e aqui novamente reportadas.....60

Figura 11. Curvas de energia potencial para a variação sistemática do ângulo diedro $\alpha 5$ (em graus) de cada uma das conformações cujos parâmetros $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$ e $\alpha 4$ minimizam a energia do sistema (B3LYP/6-31G(d,p)). Os valores de energia relativa são dados em kcal/mol.....61

Figura 12. Conformações provenientes da variação sistemática do ângulo diedro $\alpha 5$ (assinalados pelas setas curvas). Contrariamente às conformações onde $\alpha 5$ vale 60° , que parecem ser estáveis por conta da possibilidade de formação de ligação hidrogênio intramolecular, as conformações onde este ângulo assume o valor de 180° possuem valores de energia bem superiores àqueles obtidos para estas primeiras.....62

Figura 13. Comparação entre os valores otimizados para os principais parâmetros geométricos obtidos a partir da variação sistemática do ângulo diedro $\alpha 5$ (graus) para cada um dos confôrmeros pertencentes ao conjunto de conformações cujos parâmetros $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$ e $\alpha 4$ minimizam a energia do sistema.....64

Figura 14. Comparação entre os valores otimizados para os principais parâmetros geométricos obtidos a partir da variação sistemática do ângulo diedro $\alpha 5$ (em graus) para cada um dos confôrmeros pertencentes ao conjunto de conformações cujos parâmetros $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$ e $\alpha 4$ minimizam a energia do sistema.....67

Figura 15. Valores de população de Boltzmann para os confôrmeros provenientes da análise conformacional para o parâmetro $\alpha 5$ (as conformações não representadas têm valores de população de Boltzmann $\leq 2\%$). O momento de dipolo calculado para as conformações **1A_60**, **1B_60**, **2A_300** e **2B_300** é 12 D, enquanto para a conformação **3A_60** o momento de dipolo é de 13 D. Todas as ligações hidrogênio representadas tem comprimento de 2.0 Å. As distâncias entre os átomos de N6 e P são 3,8 Å para todos os confôrmeros. As cargas sobre os átomos de H e O (derivadas do potencial eletrostático segundo o esquema de Merz-Kollman-Singh⁵⁰) envolvidos na formação de ligação hidrogênio intramolecular são dadas em unidades atômicas, bem como aquelas sobre o átomo de N6 e, quando não representadas, possuem os valores representados para o confôrmero **1A_60**. Os segmentos de reta representados têm como objetivo destacar o padrão de imagem especular observado para os confôrmeros em questão.....69

Figura 16. Parâmetros geométricos para o sistema em fase gasosa (gas) e com o modelo de solvatação PCM (PCM). Os valores de ângulos diedro estão em graus.....72

Figura 17. Conformações em solução cujas populações de Boltzmann são maiores que 2% e suas respectivas conformações em fase gasosa. Para os confôrmeros em solução, as cargas sobre os átomos de N, O e H são dadas em unidades atômicas (derivadas do potencial eletrostático segundo o esquema de Merz-Kollman-Singh⁵⁰) e valem, para todas as conformações em solução - exceto quando devidamente representados - os mesmos valores daqueles representadas para o confôrmero **1A_60**. A distância N-P

para os confôrmeros em solução tem um valor médio de 4.1 Å. O momento de dipolo calculado em solução é 19 D para os confôrmeros 1A_60, 2B_300 e 3A_60 e 20 D para os confôrmeros 1B_60, 1B_300, 2A_300 e 3B_60. Os valores entre parênteses representam as respectivas populações de Boltzmann calculadas à 298,15 K.....75

Figura 18. Comparação entre os valores de energia (Componente eletrostática) e entropia (Componente entrópica) relativa em fase gasosa (isolado) e com o modelo IEFPCM (PCM (Aprox. 2)) para os sete confôrmeros com populações de Boltzmann maiores que 2% em solução. Em fase gasosa, 'Componente eletrostática' é a energia interna relativa e, em solução, a componente eletrostática da energia livre em solução, ambas à 0 K e em kcal/mol. Os valores absolutos destas grandezas em fase gasosa e em solução são os mesmos reportados nas Tabelas 4 (DZ) e 7, respectivamente. Os valores relativos de 'Componente entrópica' estão em cal/mol K e os valores de p_i estão em porcentagem.76

Figura 19. Estrutura de partida para o mapa em solução. (a) Estrutura de partida para o mapa em fase gasosa. (b) Estrutura de partida do mapa em solução, obtida através da solvatação e otimização de geometria de (a), com o programa Jaguar 7.5⁴⁰.....77

Figura 20. Mapa conformacional relaxado em solução para a variação sistemática dos ângulos diedros α_3 e α_4 , em graus, B3LYP/6-31G(d,p), com 144 pontos interpolados. Os valores de energia relativa estão em kcal/mol e são dados para a energia livre de Gibbs em solução ($\Delta G_{\text{sol}}^{T=0K}$), composta pelos termos eletrostático e de cavitação, segundo o modelo de solvatação implementado no programa Jaguar 7.5⁴⁰.....78

Figura 21. Comparação entre os parêntros geométricos α_3 e α_4 dos confôrmeros, cujas populações de Boltzmann são superiores a 2%, provenientes do mapa conformacional completamente obtido em solução (PCM (Aprox. 3)) e da solvatação e otimização de geometria em solução para os confôrmeros provenientes do mapa conformacional em fase gasosa (PCM (mapa α_3 x α_4 isolado)) e suas respectivas populações de Boltzmann (p_i), em porcentagem. A notação X(Y) refere-se às conformações obtidas do mapa em solução (X) e àquelas provenientes da solvatação e otimização de geometria de cada uma das conformações correspondentes às regiões de mais baixa energia do mapa conformacional para o sistema isolado (Y).....80

Figura 22. Curvas de energia potencial relaxadas para a variação sistemática do parâmetro geométrico α_2 , em 12 passos de 30°. Os ângulos diedro estão em graus e $\Delta G_{\text{sol}}^{T=0K}$, os valores relativos de energia livre de Gibbs em solução⁴⁰, em kcal/mol.....81

Figura 23. Valores otimizados em solução, segundo o modelo de solvatação IEFPCM, dos parâmetros geométricos α_2 , α_3 e α_4 (em graus) para cada uma das doze conformações provenientes da curva de energia potencial que avalia a variação sistemática de α_2 (Figura 22). As notações apresentadas nas legendas referem-se aos valores de partida para α_2 em cada uma das otimizações de geometria.....83

Figura 24. Valores de ângulos diedro (em graus) para as conformações em solução ($p_i > 2\%$) provenientes da avaliação de α_5 , através da imposição de 300° (*_300_{imp}) a este ângulo em cada uma das conformações da Tabela 12. Com o objetivo de facilitar a observação do padrão de imagem especular obtido para algumas destas conformações, a escala de representação para os valores de ângulos diedro foi mudada de 0°–360° para -180°–180°.....86

Figura 25. Valores de população de Boltzmann (%) encontrados para os confôrmeros mais estáveis obtidos para a MePC na descrição de sistema isolado (gas) e solvatado (PCM).....88

Figura 26. Valores experimentais dos parâmetros geométricos α_2 , α_3 , α_4 e α_5 para derivados da fosfocolina em fase cristalina (a) e líquido-cristalina (b). Nestas Figuras, as notações A/B (ou a/b) referem-se às respectivas conformações e suas imagens especulares.....89

Figura 27. Valores obtidos teoricamente para os parâmetros supracitados em fase gasosa (a) e em solução (b). Na Figura (a), PCgasHF6+ é a conformação indicada na referência 34 como aquela mais abundante em fase gasosa, GPC representa a conformação obtida em fase gasosa na referência 33 e DMPC (H1/H2) as conformações em fase gasosa reportadas na referência 35. Em (b), PCsolextHF6+ e PCsolcycHF6+ são as conformações reportadas como mais abundantes em fase solução aquosa pelo trabalho da referência 32 e as conformações de 1A_60 a 1_173 são aquelas mais abundantes segundo o modelo de solvatação IEFPCM reportadas no presente trabalho.....90

1 INTRODUÇÃO

As células são as unidades fundamentais da vida. Acredita-se que a primeira célula tenha tido origem quando do surgimento de uma envoltória capaz de conter uma dada porção de matéria orgânica. Tais envoltórias são denominadas membranas celulares. Estas envoltórias impedem que moléculas produzidas no interior da célula deixem este ambiente, e não permitem que moléculas indesejáveis provenientes do meio externo se difundam para seu interior (Figura 1). Tal permeabilidade seletiva é garantida através de sistemas de transporte específicos constituídos de proteínas, uma vez que as membranas celulares são constituídas, basicamente, de agregados lipídicos e de proteínas. Assim, os componentes lipídicos das membranas constituem a barreira seletiva, enquanto proteínas atuam como sistemas específicos de transporte que possibilitam a permeabilidade seletiva^{1,2}.

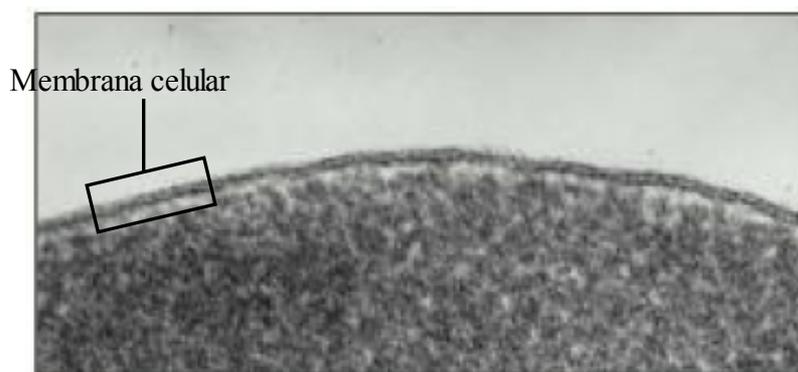


Figura 1. Micrografia eletrônica da membrana celular de células vermelhas de sangue humano (extraída e adaptada da referência 2).

A partir do surgimento de tal envoltória (membrana celular), por conta de modificações ocorridas nesta estrutura membranar (entre outros fatores³), as células diferenciaram-se em eucarióticas e procarióticas. As células ditas eucarióticas são características de vegetais e animais, enquanto as procarióticas de bactérias³. Acredita-se que tais modificações ocorridas na membrana celular deram origem, na realidade, às células eucarióticas; que se caracterizam pela compartimentalização de seu conteúdo, sendo esta compartimentalização ausente nas células procarióticas³. Tais compartimentos se constituem de sítios específicos onde diferentes processos têm lugar no interior da célula e são denominados organelas. Assim como a célula em si, as organelas celulares também são delimitadas por membranas.

As membranas externas (membranas celulares) e internas (membranas que delimitam as organelas celulares) têm características essenciais em comum, tais como: são constituídas de estruturas laminares, são formadas basicamente por lipídios e proteínas e são constituídas de agregados não-covalentes¹.

Desta forma, a manutenção da integridade das membranas presentes nas células está fortemente associada com a viabilidade celular e, conseqüentemente, com a manutenção da vida.

Os três principais tipos de lipídios de membrana são os fosfolipídios, os glicolipídios e o colesterol¹. Dentre os lipídios presentes nas membranas celulares,

destaca-se a classe dos fosfolipídios⁴, sendo os fosfolipídios de colina uma das classes de lipídios mais abundantes em sistemas biológicos^{5,6}.

A estrutura química dos fosfolipídios de membrana é bastante particular, uma vez que estes contêm uma parte de caráter hidrofílico e outra hidrofóbica - característica que lhes possibilita a organização em bicamadas. Por conta desta diferença de natureza química, estas moléculas são ditas anfipáticas, sendo a parte hidrofílica freqüentemente chamada de cabeça fosfolipídica. Nesta organização em bicamadas, os fosfolipídios se dispõem de modo tal que ambas as faces desta apresentam caráter hidrofílico, o que é fundamental em ambientes aquosos intra e extracelulares (Figura 2).

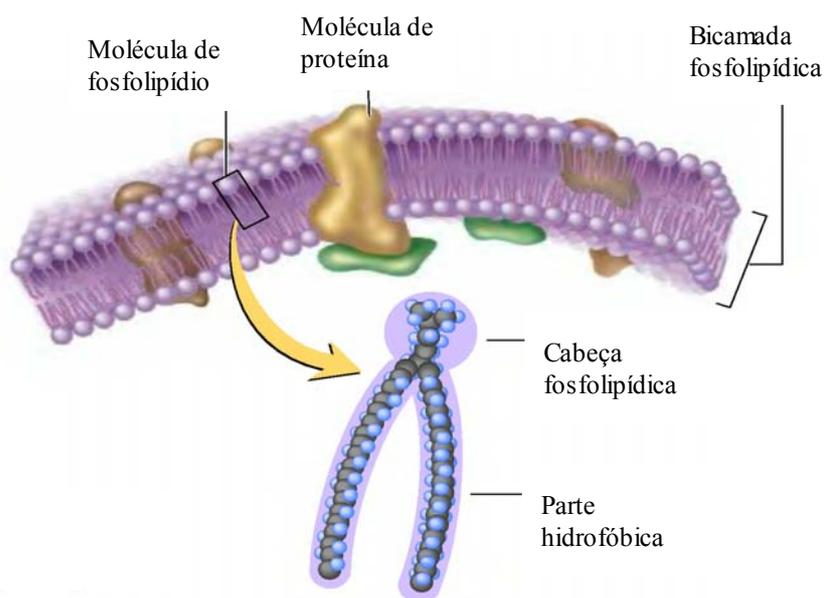


Figura 2. Modelo de mosaico fluido para membranas celulares. As membranas celulares são bicamadas de moléculas de fosfolipídios nas quais moléculas de proteína são inseridas e funcionam como canais de transporte seletivo (extraída e adaptada da referência 4).

Uma molécula de fosfolipídio é constituída por quatro componentes: ácidos graxos, uma 'plataforma' na qual são construídos os fosfolipídios, um grupo fosfato e um amino-álcool covalentemente ligado ao grupo fosfato. A 'plataforma' na qual os fosfolipídios são construídos pode ser formada por glicerol (um álcool constituído por três átomos de carbono) ou esfingosina (um tipo mais complexo de álcool). Fosfolipídios derivados do glicerol e da esfingosina são chamados fosfoglicerídios e esfingolipídios, respectivamente¹.

Os fosfolipídios são formados através da ligação de moléculas de ácidos graxos e grupos fosfato às suas respectivas 'plataformas'. Os ácidos graxos de sistemas biológicos geralmente contêm um número definido de átomos de carbono, tipicamente entre 14 e 24, sendo os ácidos graxos de 16 e 18 átomos de carbono aqueles mais comuns. As moléculas de álcool mais comumente presentes como constituintes dos fosfolipídios (ligadas covalentemente ao grupo fosfato) são etanolamina, colina e o aminoácido serina, para os fosfoglicerídios e colina, para os esfingolipídios¹, conforme apresentado na Figura 3.

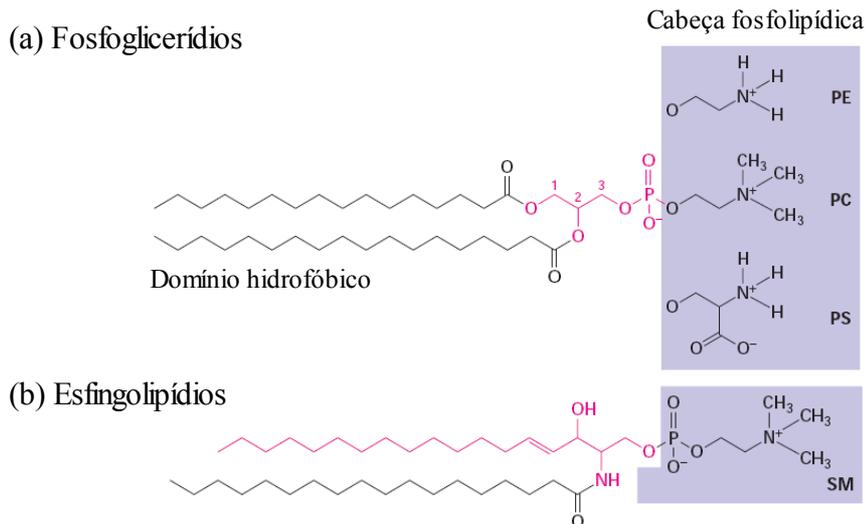


Figura 3. (a) Os fosfoglicerídios são derivados do glicerol 3-fosfato (em vermelho), através da esterificação deste por duas moléculas de ácido graxo (que constituem sua parte hidrofóbica) e pela inserção de um grupo polar ao grupo fosfato (que constitui sua parte hidrofílica ou, como comumente referenciado, sua cabeça fosfolipídica). Os fosfoglicerídios são classificados de acordo com a molécula de álcool esterificada ao grupo fosfato, PE: fosfatidiletanolamina, PC: fosfatidilcolina e PS: fosfatidilserina. (b) Esfingolipídios são derivados da esfingosina (em vermelho), um aminoálcool que contém uma longa cadeia hidrocarbônica. As esfingomielinas (SM) que contêm um grupo polar fosfato também pertencem à classe de lipídios denominada fosfolipídios (extraída e adaptada da referência 6).

Para ambas as classes de fosfolipídios, o aminoálcool colina covalentemente ligado ao grupo fosfato - que forma a cabeça fosfolipídica destes importantes constituintes das membranas biológicas, se destaca como o principal representante desta parte hidrofílica^{5,6}.

O crescente avanço das tecnologias de transplante de órgãos e tecidos - que se baseiam, entre outros aspectos, na manutenção das estruturas celulares que os compõem, têm motivado a busca por técnicas eficientes de preservação desses materiais que, além da compatibilidade doador-receptor, ainda se constituem em limitadores dessas práticas. Atualmente, essa preservação baseia-se no uso de soluções químicas preservativas, mantidas em baixas temperaturas, que são pouco eficientes. Sendo assim, existe uma grande demanda por compostos capazes de conservar esses órgãos e tecidos por um maior período de tempo.

Os processos de criopreservação e criodessecação já são utilizados mundialmente em laboratórios de biologia celular e microbiologia, e se mostram eficientes para a manutenção de amostras celulares e de microorganismos durante anos. Tais processos consistem, basicamente, na paralisação do metabolismo celular através do congelamento (criopreservação) ou do congelamento seguido de desidratação (criodessecação) das amostras celulares ou organismos a serem preservados. No entanto, é bem sabido que o congelamento, bem como a desidratação, podem trazer danos irreversíveis aos sistemas celulares se conduzidos *ad hoc* e, desta forma, tem-se

avaliado a utilização de diversos aditivos (ditos agentes protetores) aos referidos processos. Na verdade, acredita-se que o fenômeno da vitrificação, associado à presença de tais agentes crioprotetores, esteja envolvido com a preservação da estrutura celular durante o processo de congelamento, enquanto a interação agente protetor-membrana seria responsável pela manutenção da integridade celular durante o processo de desidratação⁷. Alguns crioprotetores comumente utilizados são: açúcares, lipoproteínas presentes na gema do ovo, glicerol e etilenoglicol. No processo de criodessecação, glicerol e dimetilsulfóxido (DMSO) são comumente utilizados com finalidade protetora.

Sendo assim, as superfícies das membranas celulares são importantes sítios onde as mais variadas interações substância exógena-membrana tem lugar. Dentre essas, destaca-se a interação trealose-membrana celular, que parece relacionar-se com a manutenção da viabilidade celular em processos de preservação de tecidos e microorganismos em ausência de água⁷⁻¹⁰. Acredita-se que esta interação ocorra preferencialmente entre este dissacarídeo e as cabeças fosfolipídicas dos lipídios de membrana.

Neste contexto, tem-se avaliado a utilização do dissacarídeo trealose como agente protetor nos processos de criopreservação e criodessecação, dada a sua conhecida capacidade de estabilizar materiais biológicos em diferentes condições de estresse, tais como: congelamento, desidratação e oxidação^{7,8,11-17}. Sabe-se que em organismos vivos tais como nematódeos, fungos e determinadas plantas oriundas de regiões desérticas, a trealose se constitui no agente protetor natural contra os mais variados tipos de estresses¹⁸.

Estudos com a levedura *Saccharomyces cerevisiae* permitem uma correlação direta entre sua capacidade de sobreviver em completa desidratação e a presença de trealose nas células. Estudos revelaram que tais organismos quando submetidos a condições de escassez de água aumentam consideravelmente sua produção de trealose. Outros estudos apontaram que a presença de trealose no meio extracelular, além daquela endógena, é fundamental para uma ação efetiva deste açúcar durante a desidratação¹⁹. Nesses estudos observou-se uma diminuição da viabilidade celular após o processo de desidratação em indivíduos mutantes, onde o gene que codifica um transportador específico para trealose foi silenciado. Além disto, quando tais indivíduos mutantes foram desidratados na presença de trealose exógena, observou-se um aumento na taxa de sobrevivência. Estes resultados sugerem, então, que a ação deste açúcar como protetor durante o processo de desidratação é otimizada quando este se apresenta nos meios intra e extracelular.

Trabalhos recentes apontam ser verdadeira esta hipótese: Erdag e colaboradores, em 2002, obtiveram resultados bastante animadores para a criopreservação de pele fetal humana utilizando a mistura crioprotetora trealose-dimetilsulfóxido (DMSO). Neste estudo, dado que as membranas celulares humanas não são permeáveis a trealose, este dissacarídeo parece atuar no nível extracelular, enquanto o DMSO, permeável a membrana, atuaria como protetor intracelular. Em 2003, Crowe e colaboradores, avaliando a viabilidade do processo de criodessecação de sangue humano, encontraram uma maneira de introduzir trealose no citoplasma de plaquetas e, assim, obtiveram uma boa taxa de sobrevivência para estas células. Em 2004, Satpathy e colaboradores conseguiram introduzir trealose no citoplasma de hemácias, obtendo, também, bons resultados para o processo de criodessecação. Ma e colaboradores, em 2006, e Katenz e colaboradores, em 2007, também obtiveram bons resultados para a criopreservação de redes neuronais de mamíferos e hepatócitos humanos, respectivamente, utilizando a mistura crioprotetora trealose-DMSO.

Sendo assim, diversas propostas têm sido feitas a fim de tentar elucidar o mecanismo através do qual a trealose confere proteção a materiais biológicos durante

estes processos^{8,13}, com particular interesse no processo de desidratação. Claramente, a trealose está envolvida em variados eventos estabilizantes através dos quais se obtém como resultado a manutenção das características de composição e estrutura de tecidos e órgãos conservados em sua presença.

Para entender o mecanismo de preservação, é necessário obter um modelo teórico de membrana celular que se preste à descrição da porção hidrofílica de fosfolípidios de membrana, pois acredita-se que a interação estabilizante se dê entre a trealose e as porções hidrofílicas dos fosfolípidios de membrana. **Neste sentido, o objetivo do presente trabalho é obter um protótipo de cabeça fosfolípídica constituído de metilfosfocolina, dado que o grupo polar colina é um dos mais abundantes na natureza.**

Numa etapa posterior, pretende-se avaliar quantitativa e comparativamente a energia de interação entre as conformações mais abundantes de diferentes dissacarídeos²⁰⁻²³ e o referido protótipo de membrana celular, dado que somente o dissacarídeo trealose exibe efeito bioprotetor em condições biologicamente viáveis.

Uma vez que os fosfolípidios são os principais constituintes das membranas celulares, o conhecimento a respeito de suas propriedades conformacionais e dinâmicas individuais é essencial para um melhor entendimento das bicamadas lipídicas por eles formadas, e que constituem a maior porção destas membranas. Neste sentido, diversos estudos experimentais e teóricos têm sido realizados.

As membranas celulares se apresentam à temperatura fisiológica num estado físico denominado líquido-cristalino²⁴. Tais sistemas são costumeiramente referenciados como cristais-líquidos. Num sistema líquido-cristalino, se observa ordem de longo alcance imperfeita em pelo menos uma direção (como num líquido) e ordenamento orientacional ou posicional em pelo menos uma outra direção (como num sólido) e, daí, a terminologia líquido-cristalino. A baixas temperaturas as membranas passam a existir na forma gel, um estado de agregação um tanto quanto mais ordenado que o líquido-cristalino, porém menos organizado que o cristalino²⁴.

Assim, experimentalmente, tem-se buscado a obtenção de propriedades individuais de fosfolípidios em três estados físicos: cristalino, gel e líquido-cristalino, utilizando as mais variadas técnicas experimentais²⁵. No entanto, por conta das diferenças de tipo de agregação existentes nestes três estados físicos, os resultados obtidos são extremamente controversos e ainda não existe consenso sobre as estruturas e propriedades dinâmicas individuais dos fosfolípidios de membranas, tampouco se pode dizer que existe claro entendimento a respeito do efeito das forças eletrônicas intra e intermoleculares que definem as estruturas e energias das diferentes conformações de fosfolípídio que compõem as membranas.

Até a presente data, relativamente poucos trabalhos utilizando metodologia quanto-mecânica foram realizados para a descrição teórica de sistemas como este, sendo os efeitos de correlação eletrônica negligenciados na quase totalidade destes trabalhos. Na verdade, a grande maioria dos trabalhos que se dedicam à investigação teórica de fosfolípidios baseia-se em dados estruturais provenientes de estruturas cristalinas de cristais puros ou de dados estruturais provenientes de análises realizadas no estado líquido-cristalino. No entanto, do ponto de vista teórico, este tipo de metodologia pode ser questionada em relação ao seu poder de previsão. Qualquer modelo a ser utilizado para a descrição teórica de um dado sistema físico (principalmente se este tem como um de seus principais objetivos avaliar aspectos conformacionais do respectivo sistema) deve ser capaz de prever suas conformações mais estáveis bem como de fornecer valores para propriedades obtidas teoricamente comparáveis àqueles obtidos experimentalmente, e não o contrário, procedimento, aliás, arriscado, se o sistema puder apresentar-se numa variedade de conformações. Cabe lembrar que, especialmente para

sistemas biológicos tais como este, é de fundamental importância a identificação de todas (ou pelo menos quase todas) as conformações de energia mínima do sistema, pois as conformações ativas (neste caso, potencialmente capazes de interagir com substâncias exógenas a célula) podem ser quaisquer dentre o conjunto total de mínimos de energia (locais e global).

Devido à grande extensão dos aglomerados de fosfolípidios, modelos quântico-mecânicos (QM) dedicados à avaliação teórica da bicamada fosfolipídica, tem sido limitados a explorar as propriedades de cabeças fosfolipídicas, como uma etapa inicial para o entendimento das unidades individuais de fosfolípido que constituem as membranas fosfolipídicas. Sendo assim, grande parte do trabalho teórico envolvendo a análise das propriedades de bicamadas fosfolipídicas tem sido realizado através de métodos clássicos tais como Dinâmica Molecular (DM)²⁶, menos adequados para uma descrição quantitativa de efeitos eletrônicos que definem a energia e, conseqüentemente, a distribuição de população para diferentes conformações de um sistema molecular.

Considerando, então, os trabalhos de química teórica onde uma metodologia QM vem utilizada para a descrição de fosfolípidios de membrana (na verdade, para a descrição de cabeças fosfolipídicas), um dos primeiros trabalhos de que se tem conhecimento é aquele de Pullman e Berthod, de 1974²⁷. Neste trabalho, os autores já reportam a duvidosa semelhança encontrada entre os parâmetros geométricos oriundos de cristalografia e aqueles obtidos por RMN em solução para a fosfoetanolamina (PE), fato que fora confirmado na década de 90, com o trabalho de Bruzik e Harwood²⁸ e, mais recentemente, com a publicação de Aussenac e colaboradores, em 2003²⁹. Os autores destacam ser errada a idéia disseminada na época de que as conformações observadas em fase sólida e em solução eram as mesmas, uma vez que seriam unicamente determinadas por efeitos estabilizantes intrínsecos. Neste estudo, utilizando a metodologia de Hartree-Fock (HF) e um conjunto de funções de base do tipo STO 3G, os autores construíram uma superfície de energia potencial (PES) para a fosfoetanolamina (PE) onde os parâmetros geométricos α_4 e α_5 foram avaliados, tomando como conformações de partida aquelas obtidas a partir de resultados de cristalografia (a Figura 4, na página 49, apresenta a definição dos ângulos diedro α_1 , α_2 , α_3 , α_4 e α_5 - principais parâmetros geométricos que conferem variação conformacional à metilfosfocolina (MePC) e espécies análogas tais como a fosfoetanolamina). Os autores obtiveram, em fase gasosa, como mínimo global de energia, uma conformação diferente ($\alpha_4 = 300^\circ$; $\alpha_5 = 90^\circ$) das reportadas experimentalmente ($\alpha_4 \approx 180^\circ$; $\alpha_5 = 60^\circ$ e 300°) e concluíram que não eram os efeitos de estabilização intrínseca que definiam a conformação da PE, mas que as vizinhanças exerciam forte influência sobre a conformação deste grupo polar de cabeça fosfolipídica.

Em 1975, estes mesmos autores, juntamente com Gresh³⁰, realizaram um novo estudo conformacional, agora com as cabeças de fosfocolina (PC) e fosfoetanolamina (PE), os principais grupos polares correspondentes às porções hidrofílicas de fosfolípidios de membrana³¹. Neste estudo, eles analisaram o efeito da solvatação sobre a conformação e energia destas moléculas, segundo uma metodologia desenvolvida por Pullman e colaboradores, baseada em cálculos HF e no método PCIO^{32,33}. Os autores concluíram que a solvatação destes sistemas induz, de fato, à mudanças conformacionais (para o sistema hidratado, PE: $\alpha_4 = 240^\circ$ e 150° ; $\alpha_5 = 60^\circ$, PC: $\alpha_4 = 180^\circ$; $\alpha_5 = 300^\circ$).

Aproximadamente 20 anos depois, já na década de 90, os autores Landin, Pascher e Cremer realizaram um estudo semelhante ao de Pullman e colaboradores (1975), entitulado: "O efeito de uma vizinhança polar sobre a conformação de grupos de cabeça fosfolipídica analisado através do modelo contínuo de solvatação Onsager"³⁴. Neste estudo, ainda com uma metodologia HF e diferentes conjuntos de bases, os

autores obtiveram, através de otimizações de geometria, diferentes conformações para os sistemas PE e PC isolados e em solução, partindo de geometrias oriundas de dados cristalográficos. Os autores observam, assim como Pullman e colaboradores³⁰, a presença de conformações ditas cíclicas no sistema isolado (PE: $\alpha_2 = 274^\circ$; $\alpha_3 = 295^\circ$; $\alpha_4 = 266^\circ$; $\alpha_5 = 75^\circ$, PC: $\alpha_2 = 280^\circ$; $\alpha_3 = 259^\circ$; $\alpha_4 = 242^\circ$; $\alpha_5 = 64^\circ$), que se convertem em formas ditas estendidas quando na presença de um solvente de alta constante dielétrica tal como a água (PE: $\alpha_2 = 292^\circ$; $\alpha_3 = 284^\circ$; $\alpha_4 = 142^\circ$; $\alpha_5 = 67^\circ$). As terminologias cíclica e estendida referem-se às conformações onde estão presentes e ausentes, respectivamente, ligações hidrogênio intramoleculares.

Em 1999, ainda segundo um metodologia HF/3-21G(d), os autores Li e Lagowski³⁵ publicaram um trabalho, também baseado em dados geométricos provenientes de cristalografia. Neste trabalho, os autores obtiveram conformações para os grupos polares glicerofosforiletanolamina (GPE, $\alpha_2 = 249^\circ$; $\alpha_3 = 49^\circ$; $\alpha_4 = 260^\circ$; $\alpha_5 = 70^\circ$) e glicerofosforilcolina (GPC, $\alpha_2 = 67^\circ$; $\alpha_3 = 55^\circ$; $\alpha_4 = 127^\circ$; $\alpha_5 = 292^\circ$) em fase gasosa.

Mrázkova e colaboradores, em 2005, publicaram um trabalho interessante de DM³⁶. Neste trabalho, os autores, além de uma abordagem teórica, reportam dados experimentais provenientes de espectroscopia de infravermelho, na tentativa de melhor compreender como a hidratação pode induzir mudanças estruturais e vibracionais sobre a molécula de MePC. Os autores concluem que esta molécula, tomada como protótipo de cabeça fosfolipídica, se apresenta numa conformação cíclica em fase gasosa, que tende a tornar-se estendida em função da hidratação do meio, assim como Landin e colaboradores, em 1997. Através da comparação entre os parâmetros geométricos da conformação obtida como aquela mais estável em fase gasosa e aqueles obtidos para este mesmo sistema (MePC) num complexo formado por 48 moléculas de água, os autores demonstraram que as principais diferenças estruturais referem-se aos ângulos diedro α_4 e α_5 .

Recentemente, em 2008, Krishnamurty e colaboradores publicaram o primeiro trabalho (pelo menos do qual se tem conhecimento) dedicado à investigação conformacional de uma molécula inteira de fosfolipídio (dimiristoil fosfatidilcolina, DMPC)³⁷. Neste trabalho, os autores se utilizam da Teoria do Funcional da Densidade (DFT) e, como em todos os outros trabalhos reportados anteriormente, de dados estruturais provenientes de experimentos de cristalografia e de RMN no estado líquido-cristalino a fim de obter conformações para este sistema em fase gasosa. Os autores apresentaram um estudo baseado em diferentes combinações de partes desta molécula, denominadas: cabeça, pescoço e corpo. Para a porção hidrofílica da DMPC (cabeça fosfolipídica), os autores utilizaram duas conformações distintas, nomeadas H1 e H2 (H1: $\alpha_2 = 85^\circ$; $\alpha_3 = 66^\circ$; $\alpha_4 = 121^\circ$; $\alpha_5 = 290^\circ$, H2: $\alpha_2 = 178^\circ$; $\alpha_3 = 45^\circ$; $\alpha_4 = 49^\circ$; $\alpha_5 = 70^\circ$). Ao fim de todas as combinações possíveis entre cabeças, pescoços e corpos, os autores obtiveram 14 conformações de energia mínima, que diferem entre si numa faixa de 0 a 1,00 kcal/mol. Os autores relataram que as principais diferenças estruturais entre o conjunto de conformações de mais baixa energia e aqueles de mais alta energia se associam à presença de diferentes conformações de cabeça fosfolipídica. Além disso, neste trabalho os autores mostraram ser a conformação das cabeças fosfolipídicas de colina independente da conformação adotada pelas outras porções que compõem o fosfolipídio inteiro. Entretanto, apesar deste ser o único trabalho que considerou realmente uma molécula de fosfolipídio completa, como as estruturas de partida utilizadas foram provenientes de dados de membrana nas fases cristalina e líquido-cristalina, não se pode de fato afirmar que as estruturas mais estáveis em solução tenham sido investigadas, dada a enorme possibilidade de ocorrência de mínimos locais para este sistema.

Assim, diante da infinidade de trabalhos teóricos dedicados ao entendimento dos aspectos estruturais e dinâmicos dos fosfolípidios que constituem as bicamadas fosfolipídicas, nota-se que ainda nos falta bastante para um melhor entendimento a respeito das unidades individuais que compõem estas bicamadas, o que, claramente, se constitui no ponto de partida para qualquer discussão mais profunda a respeito das propriedades destes agregados fosfolipídicos.

Obviamente, um estudo teórico que se proponha a melhor entender as propriedades estruturais e energéticas das bicamadas fosfolipídicas passa por pelo menos duas diferentes etapas de investigação: (1) análise conformacional (e energética) dos monômeros de fosfolípidios que constituem estas bicamadas e (2) avaliação das possíveis mudanças estruturais e energéticas provenientes da interação entre os diferentes monômeros. Considerando a primeira destas etapas, cabe ressaltar que, por conta da diferença de natureza química das moléculas de fosfolípido (que apresentam um domínio polar e um outro apolar), existe a necessidade, pelo menos por hora, de uma avaliação independente de ambas as porções fosfolipídicas, uma vez que ainda não se dispõe de métodos QM confiáveis e que bem descrevam concomitantemente duas naturezas químicas tão distintas.

Assim, neste trabalho, escolheu-se avaliar a porção hidrofílica de uma das classes de fosfolípidios mais abundantes nas membranas celulares: os fosfolípidios cujos grupos polares são constituídos de colina^{5,6}, através de estudos conformacionais detalhados para um protótipo constituído de metilfosfocolina, de modo a minimizar a influência da conformação de partida nos resultados finais.

2 FUNDAMENTOS TEÓRICOS

2.1 A Teoria do Funcional da Densidade (DFT)

2.1.1 A equação de Schrödinger

O objetivo final de muitos métodos quanto-mecânicos é a solução aproximada da equação de Schrödinger independente do tempo não-relativística:

$$\hat{H}\Psi_i(\vec{x}_1, \vec{x}_2, \dots, \vec{x}_N, \vec{R}_1, \vec{R}_2, \dots, \vec{R}_M) = E_i\Psi_i(\vec{x}_1, \vec{x}_2, \dots, \vec{x}_N, \vec{R}_1, \vec{R}_2, \dots, \vec{R}_M) \quad (1),$$

onde \hat{H} é o operador hamiltoniano para um sistema molecular composto por M núcleos e N elétrons na ausência de perturbações externas, \vec{x} as coordenadas espaciais dos N elétrons e \vec{R} aquelas dos M núcleos. \hat{H} é um operador diferencial que representa a energia total do sistema e pode ser escrito, em unidades atômicas, como³⁸:

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

sendo r_{iA} , r_{ij} e R_{AB} as distâncias entre o elétron i e o núcleo A, entre os elétrons i e j e entre os núcleos A e B, respectivamente.

Os primeiros dois termos descrevem a energia cinética dos elétrons e dos núcleos, respectivamente, sendo ∇^2 o operador Laplaciano, e M_A a massa do núcleo A multiplicada pela massa de um elétron. Os três termos restantes definem a parte potencial do hamiltoniano e representam a interação eletrostática atrativa entre os núcleos e os elétrons (referenciada como potencial externo $V_{ext}(\vec{r})$ no contexto da Teoria do Funcional da Densidade) e o potencial repulsivo devido às interações elétron-elétron e núcleo-núcleo, respectivamente.

Na Equação 1, Ψ_i é a função de onda do i-ésimo estado do sistema, que depende de 3N coordenadas espaciais e de 3M coordenadas espaciais dos núcleos. A função de onda Ψ contém todas as informações correspondentes ao dado sistema quântico. Finalmente, E_i é o valor numérico da energia do estado do sistema descrito por Ψ_i .

A equação de Schrödinger pode ser ainda mais simplificada se forem consideradas as significativas diferenças de massa entre os núcleos e os elétrons, uma vez que os primeiros pesam aproximadamente 1800 vezes mais que os últimos. Assim, os núcleos se movem muito mais lentamente que os elétrons e, como consequência prática, pode-se considerar que os movimentos eletrônico e nuclear sejam separáveis. Esta é a aproximação de Born-Oppenheimer. Logo, considerando esta aproximação, para uma dada geometria nuclear, a energia cinética dos núcleos é nula e a energia potencial devido à repulsão núcleo-núcleo é meramente uma constante. O hamiltoniano

completo dado pela Equação (2) pode ser separado numa componente eletrônica e outra nuclear, sendo a componente eletrônica (\hat{H}_{ele}) dada por:

$$\hat{H}_{ele} = -\frac{1}{2} \sum_{i=1}^N \nabla_i^2 - \sum_{i=1}^N \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum_{i=1}^N \sum_{j>i}^N \frac{1}{r_{ij}}$$

$$\hat{H}_{ele} = \hat{T} + \hat{V}_{Ne} + \hat{V}_{ee} \quad (3).$$

A solução da equação de Schrödinger utilizando \hat{H}_{ele} conduz à função de onda eletrônica Ψ_{ele} e à energia eletrônica E_{ele} (Equação 4). A energia total E_{tot} é obtida através do somatório das energias eletrônica e nuclear.

$$\hat{H}_{ele} \Psi_{ele} = E_{ele} \Psi_{ele} \quad (4).$$

A função de onda Ψ não é um observável, no entanto, uma interpretação física pode ser associada à integral de seu módulo quadrado:

$$\int_{\tau} |\Psi(\vec{x}_1, \vec{x}_2, \dots, \vec{x}_N)|^2 d\vec{x}_1 d\vec{x}_2 \dots d\vec{x}_N \quad (5),$$

sendo \vec{x}_i o conjunto das coordenadas espaciais e de spin do elétron i .

Esta integral representa a probabilidade de que os 1, 2, ..., N elétrons sejam encontrados, num determinado instante t , simultaneamente, no elemento de volume $d\vec{x}_1 d\vec{x}_2 \dots d\vec{x}_N$. Uma vez que elétrons são indistinguíveis, esta probabilidade não deve mudar se duas coordenadas de quaisquer dois elétrons são trocadas e:

$$|\Psi(\vec{x}_1, \vec{x}_2, \dots, \vec{x}_i, \vec{x}_j, \dots, \vec{x}_N)|^2 d\vec{x}_1 d\vec{x}_2 \dots d\vec{x}_N = |\Psi(\vec{x}_1, \vec{x}_2, \dots, \vec{x}_j, \vec{x}_i, \dots, \vec{x}_N)|^2 d\vec{x}_1 d\vec{x}_2 \dots d\vec{x}_N.$$

Assim, as duas funções de onda em questão podem, no máximo, ser diferentes por um número complexo. Pode ser demonstrado que as únicas possibilidades que ocorrem na natureza são: (1) as duas funções de onda são iguais (diz-se que a função de onda Ψ é simétrica) ou (2) a troca de coordenadas de dois elétrons quaisquer conduz a uma mudança de sinal da função de onda Ψ (sendo Ψ chamada função anti-simétrica). Funções de onda simétricas e anti-simétricas se aplicam a partículas chamadas bósons

(partículas que possuem spin inteiro) e férmions (partículas que possuem spin não-inteiro), respectivamente. Uma vez que elétrons são férmions, Ψ deve ser anti-simétrica.

2.1.2 A densidade eletrônica

A interpretação probabilística da função de onda (Equação 5) conduz à definição de densidade eletrônica $\rho(\vec{r})$:

$$\rho(\vec{r}) = N \int \dots \int |\Psi(\vec{x}_1, \vec{x}_2, \dots, \vec{x}_N)|^2 ds_1 d\vec{x}_2 \dots d\vec{x}_N \quad (6),$$

onde $\rho(\vec{r})$ determina a probabilidade de encontrar qualquer um dos N elétrons dentro do elemento de volume $d\vec{x}_1$ enquanto os outros N-1 elétrons têm posições arbitrárias.

Nota-se que esta integral múltipla representa a probabilidade de que um elétron em particular esteja em um dado elemento de volume $d\vec{x}_1$. Uma vez que elétrons são indistinguíveis, a probabilidade de encontrar qualquer elétron nesta posição é somente N vezes a probabilidade para um elétron em particular.

Claramente, $\rho(\vec{r})$ é uma função não-negativa e de somente três coordenadas espaciais. Diferentemente da função de onda Ψ , a densidade eletrônica é um observável e pode ser medida experimentalmente, por exemplo, por difração de raios-X. Uma de suas características importantes é que, devido à força atrativa exercida pelas cargas positivas dos núcleos, $\rho(\vec{r})$ exibe um máximo de valor definido quando $r_{iA} \rightarrow 0$. Assim, nessas posições o gradiente da densidade apresenta descontinuidade e, logo, podem ser derivadas expressões onde se relacionam a densidade eletrônica e as cargas nucleares Z. De acordo com o que foi exposto anteriormente, a densidade eletrônica possui as seguintes propriedades:

$$(1) \int \rho(\vec{r}) d\vec{r} = N \quad (7);$$

(2) $\rho(\vec{r})$ apresenta máximos nas posições R_A dos núcleos e

$$(3) \lim_{r_{iA} \rightarrow 0} \left[\frac{\partial}{\partial r} + 2Z_A \right] \bar{\rho}(\vec{r}) = 0 \quad (8),$$

ou seja, a densidade nas posições nucleares contém informação sobre a carga nuclear Z.

2.1.2.1 A densidade eletrônica como variável básica

A aproximação convencional utilizada em química quântica usa a função de onda Ψ como grandeza central. A razão é que, uma vez que Ψ é conhecida (ou uma boa aproximação desta) pode-se ter acesso a qualquer informação pertinente ao respectivo estado do sistema. No entanto, a função de onda é uma grandeza muito complicada que não pode ser acessada experimentalmente e que depende de $4N$ variáveis.

Por outro lado, o operador hamiltoniano eletrônico \hat{H}_{ele} contém somente operadores que atuam em um $(\hat{T} + \hat{V}_{Ne})$ ou, no máximo, dois elétrons (\hat{V}_{ee}) , independentemente da extensão do sistema. Então, chega-se à conclusão que o operador hamiltoniano eletrônico molecular é unicamente definido por N (o número total de elétrons), R_A (a posição dos núcleos no espaço) e Z_A (as cargas destes núcleos).

Sendo assim, dadas as propriedades da densidade eletrônica (Equações 7 e 8), conclui-se que esta é capaz de fornecer todas as ferramentas identificadas como sendo necessárias para a descrição do hamiltoniano eletrônico de um dado sistema e, desse modo, torna possível a determinação de todas as propriedades moleculares de um dado sistema.

2.1.3 Os teoremas de Hohenberg-Kohn³⁹

2.1.3.1 O teorema da existência de Hohenberg-Kohn

Segundo a linguagem da Teoria do Funcional da Densidade (DFT), elétrons interagem uns com os outros e com um ‘potencial externo’ $V_{ext}(\vec{r})$. Em uma molécula, este potencial externo é dado pela atração elétron-núcleo.

Hohenberg e Kohn demonstraram por ‘redução ao absurdo’ que a densidade do estado fundamental de um sistema determina seu potencial externo.

Assumamos que dois diferentes potenciais externos $(V_{ext}^a(\vec{r})$ e $V_{ext}^b(\vec{r}))$ possam ser consistentes com a mesma densidade $\rho_0(\vec{r})$ de um dado estado fundamental não-degenerado, e que componham os hamiltonianos \hat{H}^a e \hat{H}^b , respectivamente.

O teorema variacional estabelece que o valor esperado para a energia de um sistema descrito por \hat{H}^a usando a função de onda aproximada Ψ_0^b deve ser mais alto que a energia do estado fundamental de a, E_0^a :

$$E_0^a < \langle \Psi_0^b | \hat{H}^a | \Psi_0^b \rangle .$$

Assim sendo, a integral pode ser reescrita como:

$E_0^a < \langle \Psi_0^b | H^a - H^b + H^b | \Psi_0^b \rangle$, e então:

$$E_0^a < \langle \Psi_0^b | H^a - H^b | \Psi_0^b \rangle + \langle \Psi_0^b | H^b | \Psi_0^b \rangle.$$

Conseqüentemente:

$$E_0^a < \langle \Psi_0^b | V_{ext}^a(\vec{r}) - V_{ext}^b(\vec{r}) | \Psi_0^b \rangle + E_0^b$$

$$E_0^a < \int [V_{ext}^a(\vec{r}) - V_{ext}^b(\vec{r})] \rho_0(\vec{r}) d\vec{r} + E_0^b \quad (9).$$

Uma vez que não se fez distinção entre a e b, os índices a e b da equação 9 podem ser trocados, gerando:

$$E_0^b < \int [V_{ext}^b(\vec{r}) - V_{ext}^a(\vec{r})] \rho_0(\vec{r}) d\vec{r} + E_0^a \quad (10).$$

Somando as equações 9 e 10, obtém-se:

$$E_0^a + E_0^b < \int [V_{ext}^b(\vec{r}) - V_{ext}^a(\vec{r})] \rho_0(\vec{r}) d\vec{r} + \int [V_{ext}^a(\vec{r}) - V_{ext}^b(\vec{r})] \rho_0(\vec{r}) d\vec{r} + E_0^b + E_0^a$$

$$E_0^a + E_0^b < \int [V_{ext}^b(\vec{r}) - V_{ext}^a(\vec{r}) + V_{ext}^a(\vec{r}) - V_{ext}^b(\vec{r})] \rho_0(\vec{r}) d\vec{r} + E_0^b + E_0^a$$

$$E_0^a + E_0^b < E_0^b + E_0^a \quad (11).$$

Sendo assim, obtém-se um resultado impossível (Equação 11), que indica que a premissa inicial é incorreta ou, em outras palavras, que a densidade do estado fundamental não-degenerado deve determinar o potencial externo e, conseqüentemente, o hamiltoniano e sua função de onda.

2.1.3.2 O teorema variacional de Hohenberg-Kohn

Assim como para a Equação de Schrödinger, Hohenberg e Kohn demonstraram que a densidade eletrônica obedece a um princípio variacional.

Seja uma função densidade eletrônica candidata à descrição da densidade eletrônica de um dado sistema. Nesse caso, o primeiro teorema de Hohenberg-Kohn estabelece que esta densidade determina um hamiltoniano e uma função de onda candidatos à descrição do sistema. Assim, o valor esperado para a energia do sistema pode ser expresso:

$$E_{cand} = \langle \Psi_{cand} | H_{cand} | \Psi_{cand} \rangle \geq E_0,$$

que, pelo princípio variacional deve ser maior ou igual que a energia do verdadeiro estado fundamental.

2.1.4 A aproximação da ‘busca restrita’³⁸

Segundo o princípio variacional, a energia eletrônica E_0 do estado fundamental de um dado sistema E_0 pode ser obtida pela seguinte expressão:

$$E_0 = \min_{\Psi \rightarrow N} E[\Psi] = \min_{\Psi \rightarrow N} \langle \Psi | \hat{T} + \hat{V}_{Ne} + \hat{V}_{ee} | \Psi \rangle \quad (12),$$

onde $\Psi \rightarrow N$ indica que Ψ é uma função de onda de N elétrons e $E[\Psi]$ que a energia eletrônica é um funcional de Ψ .

Na resolução deste problema, procura-se uma função de onda de N elétrons entre todas aquelas possíveis num dado conjunto de funções (por exemplo, entre o conjunto das funções anti-simétricas) que forneça o mais baixo valor esperado possível para o operador hamiltoniano do sistema.

A fim de conectar este princípio variacional à Teoria do Funcional da Densidade (DFT), realiza-se a ‘busca restrita’ (definida pela Equação 12) em duas etapas:

1ª.) Busca-se no conjunto de todas as funções de onda anti-simétricas cujos módulos quadrados conduzem a uma densidade particular (sob a restrição de que a integração destas densidades ρ_x conduzam ao número correto de elétrons) aquela que fornece o mais baixo valor de energia;

2ª.) A segunda etapa estende a ‘busca’ sobre todas as densidades. Assim, é possível obter a densidade do estado fundamental entre as muitas densidades ρ_Γ , $\Gamma = A, B, \dots X, \dots$, para qual a função de onda Ψ_{\min}^Γ obtida na primeira etapa fornece a mais baixa energia.

Este método de minimização em DFT é conhecido como ‘Busca Restrita de Levy’ e é frequentemente expresso como:

$$E_0 = \min_{\rho \rightarrow N} \left(\min_{\Psi \rightarrow \rho} \left\langle \Psi \left| \hat{T} + \hat{V}_{Ne} + \hat{V}_{ee} \right| \Psi \right\rangle \right).$$

A energia associada a um dado potencial externo é determinada simplesmente pela densidade e é independente da função de onda que gera tal densidade. Logo, pode-se separá-la das contribuições cinética e de repulsão elétron-elétron:

$$E_0 = \min_{\rho \rightarrow N} \left(\min_{\Psi \rightarrow \rho} \left\langle \Psi \left| \hat{T} + \hat{V}_{ee} \right| \Psi \right\rangle + \int \rho(\vec{r}) V_{Ne} d\vec{r} \right),$$

ou, introduzindo o funcional universal:

$$F[\rho] = \min_{\Psi \rightarrow \rho} \left\langle \Psi \left| \hat{T} + \hat{V}_{ee} \right| \Psi \right\rangle,$$

$$E_0 = \min_{\rho \rightarrow N} \left(F[\rho] + \int \rho(\vec{r}) V_{Ne} d\vec{r} \right).$$

Assim, dada uma densidade, $F[\rho] + \int \rho(\vec{r}) V_{Ne} d\vec{r}$ fornece uma energia correspondente e, sob minimização, a densidade do estado fundamental e sua energia são obtidas.

O funcional universal $F[\rho]$ contém as contribuições individuais da energia cinética, da interação clássica de Coulomb e da porção não-clássica devida aos termos de auto-interação e troca e aos efeitos de correlação eletrônica. Tais termos não-clássicos são oriundos da forma assumida para a função de onda Ψ anti-simétrica, sendo os efeitos de correlação eletrônica causados, principalmente, pela repulsão instantânea entre os elétrons.

2.1.5 As equações de Kohn-Sham³⁹

Em 1965, Kohn e Sham propuseram que a resolução da equação de Schrödinger poderia ser consideravelmente mais simples se o operador hamiltoniano fosse descrito para um sistema de elétrons não-interagentes. Um hamiltoniano deste tipo pode ser expresso como a soma de operadores de um elétron.

Brilhantemente, estes pesquisadores propuseram tomar como ponto de partida para a resolução deste problema um sistema fictício de elétrons não-interagentes que possua a mesma densidade do sistema real (onde os elétrons, de fato, interagem). Isto é possível uma vez que a densidade determina as posições e cargas nucleares e, sendo assim, estas quantidades são necessariamente idênticas para sistemas não-interagentes e sistemas reais.

Nesta aproximação, o funcional da energia eletrônica pode ser dividido em componentes específicos:

$$E[\rho(\vec{r})] = T_{ni}[\rho(\vec{r})] + V_{Ne}[\rho(\vec{r})] + V_{ee}[\rho(\vec{r})] + \Delta T[\rho(\vec{r})] + \Delta V_{ee}[\rho(\vec{r})] ,$$

onde os termos à direita referem-se à energia cinética dos elétrons não-interagentes, à interação elétron-núcleo, à repulsão elétron-elétron clássica, à correção da energia cinética proveniente da natureza interagente dos elétrons e a todas as correções não-clássicas da energia de repulsão elétron-elétron, respectivamente.

Dada a relação entre a densidade eletrônica $\rho(\vec{r})$ e a função de onda $\Psi(\vec{x}_1, \vec{x}_2, \dots, \vec{x}_N)$ (Equação 6), para um sistema de N elétrons não-interagentes:

$$E[\rho(\vec{r})] = \sum_{i=1}^N \left(\left\langle \chi_i \left| -\frac{1}{2} \nabla_i^2 \right| \chi_i \right\rangle - \left\langle \chi_i \left| \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{r_{iA}} \right| \chi_i \right\rangle \right) + \sum_{i=1}^N \left\langle \chi_i \left| \frac{1}{2} \int \frac{\rho(\vec{r}')}{|\vec{r}_i - \vec{r}'|} d\vec{r}' \right| \chi_i \right\rangle + E_{xc}[\rho(\vec{r})] \quad (13),$$

onde χ_i denota os spin-orbitais que constituem a função de onda $\Psi^{KS}(\vec{x}_1, \vec{x}_2, \dots, \vec{x}_N)$ anti-simétrica, representada por um determinante de Slater e KS indica ‘função de onda de Kohn-Sham’.

Na Equação acima, os termos ΔT e ΔV_{ee} foram agrupados num único termo E_{xc} , tipicamente chamado termo de troca e correlação da energia. Este termo inclui não somente os efeitos quanto-mecânicos de troca e correlação, mas também a correção para a energia de auto-interação e para a diferença em energia cinética entre um sistema fictício de elétrons não-interagentes e um sistema real de elétrons interagentes.

Assim, de acordo com Kohn e Sham, é possível utilizar-se de um sistema de referência de elétrons não-interagentes e, portanto, de operadores de um elétron (chamados operadores de Kohn-Sham, h_i^{KS}) para construir um conjunto de equações de pseudo-autovalor:

$$h_i^{KS} \chi_i = \epsilon_i \chi_i \quad (14),$$

$$h_i^{KS} = -\frac{1}{2} \nabla_i^2 - \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{r_{iA}} + \int \frac{\rho(\vec{r}')}{|\vec{r}_i - \vec{r}'|} d\vec{r}' + V_{xc} \quad (15),$$

$$V_{xc} = \frac{\delta E_{xc}}{\delta \rho} \quad (16),$$

sendo V_{XC} o operador de um elétron associado a E_{XC} .

A Equação 15 pode ser reescrita como⁴⁰:

$$h_i^{KS} = -\frac{1}{2}\nabla_i^2 + V_{efet}^i(\vec{r}),$$

sendo $V_{efet}^i(\vec{r})$ denotado potencial efetivo e

$$V_{efet}^i(\vec{r}) = -\sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{r_{iA}} + \int \frac{\rho(\vec{r}')}{|\vec{r}_i - \vec{r}'|} d\vec{r}' + V_{XC} \quad (17).$$

A conexão entre este sistema hipotético e o sistema real pode ser estabelecida escolhendo-se o potencial efetivo de forma que a densidade eletrônica resultante seja igual à densidade eletrônica fundamental. O potencial efetivo é obtido minimizando-se a expressão da energia descrita na Equação 13, com a restrição de que as funções χ_i sejam ortonormais.

Como o potencial efetivo depende da densidade eletrônica, as equações de Kohn-Sham são resolvidas auto-consistentemente. As equações 14, 16 e 17 representam o esquema auto-consistente de Kohn-Sham (KS-SCF). No esquema de Kohn-Sham, a densidade eletrônica exata do estado fundamental de um sistema de elétrons interagentes é gerada a partir da solução de um problema auxiliar de elétrons não-interagentes, definido para fornecer a densidade do estado fundamental.

As equações de Kohn-Sham (KS), assim como as equações de Hartree-Fock⁴¹, geram equações de um elétron que descrevem sistemas de muitos elétrons. No entanto, as equações de KS, em princípio, são exatas, uma vez que incorporam totalmente efeitos de correlação eletrônica e as soluções delas equivalem, formalmente, à resolução exata do problema variacional na Teoria do Funcional da Densidade.

Segunda a Teoria do Funcional da Densidade, a energia total é determinada através da expressão:

$$E = \sum_{i=1}^N \varepsilon_i - \frac{1}{2} \int \frac{\rho(\vec{r}_1)\rho(\vec{r}_2)}{r_{12}} d\vec{r}_1 d\vec{r}_2 + E_{XC}[\rho] - \int \rho(\vec{r})V_{XC}(\vec{r})d\vec{r}.$$

Em suma, o esquema KS-SCF permite calcular a densidade eletrônica do estado fundamental e, assim, todas as outras propriedades do sistema podem ser calculadas, desde que os funcionais da densidade eletrônica sejam devidamente conhecidos.

2.1.6 Funcionais de troca e correlação^{39,42}

Como enfatizado anteriormente, em princípio, o termo E_{XC} não contabiliza apenas a diferença entre as energias de repulsão elétron-elétron clássica e quântica, mas também inclui a diferença de energia cinética entre os sistemas fictício não-interagente e interagente. Na prática, muitos funcionais modernos não se prestam a computar esta porção explicitamente. Ao invés disso, eles ignoram este termo ou tentam construir uma função análoga à Equação 18 (onde também é incorporada a diferença de energia cinética entre os sistemas não-interagente e interagente).

$$V_{ee}[\rho(\vec{r})] = \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(\vec{r}_1)\rho(\vec{r}_2)}{r_{12}} d\vec{r}_1 d\vec{r}_2 + \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(\vec{r}_1)h(\vec{r}_1;\vec{r}_2)}{r_{12}} d\vec{r}_1 d\vec{r}_2 \quad (18),$$

onde o primeiro termo à direita refere-se à repulsão intereletrônica clássica e o segundo, constitui-se de uma correção para este termo, onde são considerados os efeitos energéticos associados à troca e correlação. A notação $h(\vec{r}_1;\vec{r}_2)$ refere-se a ‘função buraco’³⁸ associada à $\rho(\vec{r})$ e enfatiza que o ‘buraco’ é centrado na posição do elétron 1 e é avaliada a partir daí como uma função das coordenadas espaciais restantes definindo \vec{r}_2 .

Além disso, em muitos funcionais aparecem parâmetros empíricos, que necessariamente introduzem alguma correção para a energia cinética, uma vez que são baseados em experimentos.

Seguindo o trabalho de Kohn e Sham, os funcionais aproximados empregados pelos métodos DFT correntes dividem a energia eletrônica em vários termos:

$$E = E^T + E^V + E^J + E^{XC},$$

onde E^T é o termo de energia cinética, E^V inclui termos que descrevem a energia potencial da atração elétron-núcleo e da repulsão entre pares de núcleos, E^J é o termo de repulsão elétron-elétron e E^{XC} é o termo de troca-correlação, que inclui partes restantes da interação elétron-elétron.

Todos os termos, exceto o de repulsão núcleo-núcleo, são funções da densidade eletrônica, sendo E^T , E^V e E^J dados pelas seguintes expressões:

$$E^T = \frac{3}{10} (3\pi^2)^{2/3} \int \rho(\vec{r})^{5/3} d\vec{r},$$

onde E^T é a energia cinética de um gás uniforme de elétrons, segundo o modelo de Thomas-Fermi),

$$E^V = \sum_{A=1}^M \int \frac{Z_A}{r_{iA}} \rho(\vec{r}) d\vec{r} \quad e$$

$$E^J = \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(\vec{r}_1)\rho(\vec{r}_2)}{r_{12}} d\vec{r}_1 d\vec{r}_2 ,$$

onde \vec{r}_1 e \vec{r}_2 são variáveis de integração imaginárias sobre todo o espaço.

Hohenberg e Kohn demonstraram que E^{XC} é totalmente determinado pela densidade eletrônica (ou seja, é um funcional da densidade eletrônica). Na prática, E_{XC} é usualmente aproximado como uma integral envolvendo somente as densidades de spin e, possivelmente, seus gradientes:

$$E^{XC}[\rho] = \int f(\rho_\alpha(\vec{r}), \rho_\beta(\vec{r}), \nabla \rho_\alpha(\vec{r}), \nabla \rho_\beta(\vec{r})) d\vec{r} ,$$

onde $\rho_\alpha(\vec{r})$ refere-se à densidade de spin α , $\rho_\beta(\vec{r})$ à densidade de spin β e ρ à densidade eletrônica total ($\rho_\alpha(\vec{r}) + \rho_\beta(\vec{r})$).

Na discussão sobre a natureza de vários funcionais, é conveniente adotar uma notação comumente utilizada neste tratamento. Por exemplo, a dependência do funcional de troca e correlação com a densidade eletrônica é comumente expressa como uma interação entre a densidade eletrônica e uma ‘densidade de energia’ ϵ^{XC} , que é dependente da densidade eletrônica:

$$E^{XC}[\rho] = \int \rho(\vec{r}) \epsilon^{XC}[\rho] d\vec{r} .$$

A ‘densidade de energia’ é sempre tratada como a soma das contribuições individuais de troca e correlação.

Uma outra convenção expressa a densidade eletrônica em termos de um raio efetivo, que define uma esfera dentro da qual um elétron estaria contido e que teria a mesma densidade em todos os seus pontos:

$$r_s(\vec{r}) = \left(\frac{3}{4\pi \rho(\vec{r})} \right)^{1/3} .$$

Em DFT, o spin do elétron pode ser facilmente tratado, uma vez que precisa-se, somente, de funcionais individuais das densidades de spin α e β . Para isto, existe uma

convenção notacional: as densidades de spin em qualquer posição são frequentemente expressas em termos da função $\zeta(\vec{r})$, a polarização de spin normalizada:

$$\zeta(\vec{r}) = \frac{\rho^\alpha(\vec{r}) - \rho^\beta(\vec{r})}{\rho(\vec{r})},$$

sendo a densidade de spin α simplesmente metade do produto da densidade total $\rho(\vec{r})$ e $(\zeta+1)$, e a densidade de spin β é a diferença entre este valor e a densidade total $\rho(\vec{r})$.

O termo E^{XC} é usualmente separado em dois termos, referenciados como termos de troca e correlação que, na verdade, correspondem às interações entre elétrons de mesmo spin e elétrons de spins contrários, respectivamente:

$$E^{XC}[\rho] = E^X[\rho] + E^C[\rho].$$

Na Equação acima, ambos os termos à direita da igualdade podem ser definidos segundo duas aproximações: (1) funcionais locais (que dependem somente da densidade eletrônica ρ) e (2) funcionais gradiente-corrigidos (que dependem de ρ e de seu gradiente $\nabla\rho$).

O funcional de troca sempre é definido como a seguir:

$$E^X_{LDA} = -\frac{3}{2} \left(\frac{3}{4\pi} \right)^{\frac{1}{3}} \int \rho^{\frac{4}{3}} d\vec{r},$$

onde LDA refere-se à aproximação de densidade local.

A forma funcional acima foi desenvolvida para reproduzir a energia de troca de um gás de elétrons uniforme e, sendo assim, por si só, não é suficientemente acurada para a descrição de sistemas moleculares.

Em 1988, Becke formulou o seguinte funcional gradiente-corrigido baseado no funcional de troca LDA⁴²:

$$E^X_{Becke88} = E^X_{LDA} - \gamma \int \frac{\rho^{\frac{4}{3}} x^2}{(1 + 6\gamma \sinh^{-1} x)} d\vec{r},$$

onde $x = \rho^{-4/3} |\nabla \rho|$ e γ é um parâmetro escolhido para ajustar a energia de troca conhecida para um gás de átomos inertes, sendo seu valor definido por Becke como 0,0042 hartree.

Uma vez que este funcional nada mais é que uma correção do funcional de troca LDA, ele guarda consigo deficiências de descrição, tal como este primeiro.

Similarmente, existem funcionais de correlação locais e gradiente-corrigidos. Por exemplo, a formulação de Perdew e Wang para a parte local do funcional de correlação⁴³:

$$E^C = \int \rho \varepsilon_C(r_s(\rho(\vec{r})), \zeta) d^3\vec{r},$$

sendo:

$$\varepsilon_C(r_s, \zeta) = \varepsilon_C(\rho, 0) + a_C(r_s) \frac{f(\zeta)}{f''(0)} (1 - \zeta^4) + [\varepsilon_C(\rho, 1) - \varepsilon_C(\rho, 0)] f(\zeta) \zeta^4 \text{ e}$$

$$f(\zeta) = \frac{[(1 + \zeta)^{\frac{4}{3}} + (1 - \zeta)^{\frac{4}{3}} - 2]}{2^{\frac{4}{3}} - 2}.$$

A função G é utilizada para computar os valores de $\varepsilon_C(r_s, 0)$, $\varepsilon_C(r_s, 1)$ e $-a_C(r_s)$:

$$G(r_s, A, \alpha_1, \beta_1, \beta_2, \beta_3, \beta_4, P) = -2A(1 + \alpha_1 r_s) \ln \left(1 + \frac{1}{2A(\beta_1 r_s^{\frac{1}{2}} + \beta_2 r_s + \beta_3 r_s^{\frac{3}{2}} + \beta_4 r_s^{P+1})} \right)$$

Nesta equação, todos os argumentos de G, exceto r_s , são parâmetros escolhidos por Perdew e Wang para reproduzir cálculos acurados para gases de elétrons uniformes. Os conjuntos de parâmetros diferem quando G é utilizada para avaliar $\varepsilon_C(r_s, 0)$, $\varepsilon_C(r_s, 1)$ e $-a_C(r_s)$.

De modo análogo ao funcional de troca mencionado anteriormente, um funcional de correlação deve também ser melhorado através da adição da correção para o gradiente da densidade eletrônica.

Métodos DFT puros são definidos juntando-se um funcional de troca e um funcional de correlação. Por exemplo, o funcional BLYP⁴⁴ junta o funcional de troca gradiente-corrigido de Becke com o funcional de correlação de Lee, Yang e Parr⁴⁵.

2.1.7 Funcionais híbridos - o funcional B3LYP

Na prática, cálculos KS-SCF são realizados de uma maneira iterativa análoga à computação de HF-SCF (método de Hartree-Fock auto-consistente). Esta similaridade com a metodologia de HF foi apontada por Kohn e Shan. A teoria de HF também inclui um termo de troca em parte de sua formulação e o método híbrido HF/DFT foi proposto para incorporar a não-localidade do método na DFT. Assim, Becke formulou funcionais que incluem uma mistura de termos de troca de HF e de DFT com termos de correlação de DFT, definindo o termo de troca-correlação como:

$$E^{XC}_{hibr} = c_{HF} E^X_{HF} + c_{DFT} E^{XC}_{DFT} ,$$

onde os c 's definem constantes.

Os métodos híbridos melhoram, significativamente, os funcionais de troca e correlação. Por exemplo, o funcional de três parâmetros de Becke⁴⁶ é definido pela seguinte expressão:

$$E^{XC}_{B3LYP} = E^X_{LDA} + c_0 (E^X_{HF} - E^X_{LDA}) + c_X \Delta E^X_{B88} + E^C_{VWN3} + c_c (E^C_{LYP} - E^C_{VWN3}) .$$

O parâmetro c_0 permite que qualquer mistura de funcionais de troca local seja feita. Além disso, a diferença entre os funcionais de troca gradiente-corrigido e local de Becke e LDA também é incluída, escalada pelo fator c_X . Similarmente, o funcional de correlação local VWN3 é utilizado, e deve ser, opcionalmente, corrigido pela correção de correlação de LYP através do parâmetro c_c . No funcional B3LYP, os valores dos parâmetros são aqueles especificados por Becke, os quais foram determinados por Becke ajustando-se energias de atomização, potenciais de ionização de afinidades ao H^+ e energias atômicas para os átomos da primeira linha da tabela periódica, e valem: $c_0 = 0,20$, $c_X = 0,72$ e $c_c = 0,81$.

O método híbrido melhorou bastante a capacidade da Teoria do Funcional da Densidade, no entanto, este ainda encontra dificuldades para tratar sistemas fracamente ligados. Os limites da capacidade da DFT estão localizados na região das interações fracas inter e intramoleculares.

2.2. A lei de distribuição de Boltzmann⁴⁷

2.2.1 A Mecânica Estatística

O objetivo central da Mecânica Estatística é a previsão de propriedades de substâncias a partir das propriedades dos átomos e moléculas que as compõem. Este

intento se justifica pelo fato de que as propriedades obtidas experimentalmente são, na realidade, propriedades médias provenientes destas distribuições.

A lei de distribuição de Boltzmann especifica como os diferentes estados de um sistema são ocupados através de seus níveis de energia acessíveis. Isto se faz possível através dos princípios da Termodinâmica e da propriedade macroscópica entropia, que se relaciona à propriedade microscópica distribuição de probabilidade.

2.2.2 Entropia

A entropia (S) é uma grandeza macroscópica definida como:

$$S = k \ln W ,$$

onde k é a chamada constante de Boltzmann e vale $1,380662 \times 10^{-23} \text{ JK}^{-1}$ e W é a multiplicidade dos graus de liberdade microscópicos de um sistema.

Demonstra-se que a entropia também pode ser expressa em termos de p_i - a fração do número total de partículas do sistema com energia E_i :

$$p_i = \frac{n_i}{N} ,$$

onde n_i se associa à ocupação do nível de energia E_i e

$$N = \sum_{i=1}^t n_i ,$$

sendo t o número total de estados para um dado sistema.

Sendo a multiplicidade W definida como:

$$W = \frac{N!}{n_1! n_2! \dots n_t!} ,$$

utilizando a aproximação de Stirling, pode-se demonstrar que a entropia S se expressa como na Equação 19:

$$\frac{S}{k} = - \sum_{i=1}^t p_i \ln p_i \tag{19}.$$

2.2.3 A lei de distribuição de Boltzmann

Dado um sistema fechado, isocórico e isotérmico, isto é com número de mols, volume e temperatura (T) constantes, a condição de equilíbrio termodinâmico requer que a função energia livre de Helmholtz (F) assuma seu valor mínimo. Então, esta condição de equilíbrio se expressa:

$$dF = dU - TdS = 0 ,$$

onde U é a energia interna do sistema.

A lei de distribuição de Boltzmann fornece a distribuição (p_1, p_2, \dots, p_t) capaz de conferir energia livre de Helmholtz mínima ao sistema, sujeita à restrição

$$\sum_{i=1}^t p_i = 1 .$$

Tomando a energia interna macroscópica U como a média sobre os níveis de energia microscópica E_i :

$$U = \langle E \rangle = \sum_{i=1}^t p_i E_i ,$$

segue que:

$$dU = d\langle E \rangle = \sum_{i=1}^t E_i dp_i ,$$

uma vez que E_i é unicamente definido pela física do sistema e, sendo assim, é uma quantidade definida e constante.

Utilizando a expressão da entropia como função de p_i (Equação 19), obtém-se:

$$dS = -k \sum_{i=1}^t (1 + \ln p_i) dp_i .$$

Pelo método dos multiplicadores de Lagrange, a condição de equilíbrio pode ser expressa como:

$$dF = \sum_{i=1}^t [E_i + kT(1 + \ln p_i) + \alpha] dp_i = 0 ,$$

onde α é o multiplicador de Lagrange.

Da igualdade acima segue que:

$$\ln p_i = - \frac{E_i}{kT} - \frac{\alpha}{kT} - 1,$$

de onde se obtém:

$$p_i = e^{-E_i/kT} e^{-\alpha/kT-1},$$

que pode ser reescrita como:

$$\frac{p_i}{\sum_{i=1}^t p_i} = \frac{e^{-E_i/kT} e^{-\alpha/kT-1}}{e^{-\alpha/kT-1} \sum_{i=1}^t e^{-E_i/kT}},$$

fornecendo:

$$p_i = \frac{e^{-E_i/kT}}{\sum_{i=1}^t e^{-E_i/kT}} = \frac{e^{-E_i/kT}}{Q} \quad (20),$$

sendo Q é a função de partição do sistema:

$$Q = \sum_{i=1}^t e^{-E_i/kT} \quad (21).$$

A Equação 20 é a chamada lei de distribuição de Boltzmann.

2.3 Obtenção teórica de propriedades termodinâmicas⁴⁷

2.3.1 A função de partição Q

A função de partição Q (Equação 21) faz a conexão entre as propriedades termodinâmicas macroscópicas e as propriedades microscópicas. Esta é a soma dos

fatores de Boltzmann $e^{-E_i/kT}$ que especificam como partículas são particionadas entre seus estados acessíveis.

A função de partição representa o número de estados efetivamente acessíveis para um sistema a uma dada temperatura T e a magnitude do termo kT determina se um estado i é ou não efetivamente acessível. Então, conclui-se que o termo kT se constitui de uma importante unidade de referência de energia, de modo que estados que têm energia mais alta que kT são relativamente inacessíveis e não-populados numa dada temperatura T , enquanto estados que têm energia mais baixa que kT são bem-populados à temperatura T .

O número de estados ocupados numa dada temperatura não é o mesmo que o número de estados acessíveis, que é sempre t . O número t é fixado pela física do sistema. Em contraste, a ocupação efetiva dada por Q é também uma função da temperatura.

2.3.1.1 Q para subsistemas independentes e distinguíveis

A lei de distribuição de Boltzmann se aplica a sistemas de qualquer grau de complexidade. As probabilidades p_i podem representar estados $i = 1, 2, \dots, t$ de átomos em um gás ideal ou estados cujas energias dependam das configurações de um sistema complexo de subsistemas interagentes. No entanto, os cálculos são mais simples se um sistema é composto por subsistemas não-interagentes.

Suponhamos um sistema formado por subsistemas não-interagentes e distinguíveis. Neste caso, a energia do sistema é a soma das energias de cada subsistema, e a função de partição do sistema é o produto das funções de partição individuais:

$$Q = q^N \tag{22},$$

onde q denota a função de partição para cada subsistema.

2.3.2 Obtenção da propriedade termodinâmica entropia a partir de Q

A entropia de um sistema pode ser definida pela Equação 19:

$$\frac{S}{k} = - \sum_{i=1}^t p_i \ln p_i .$$

Substituindo a distribuição de Boltzmann $p_i = \frac{e^{-E_i/kT}}{Q}$ dada pela Equação 20

na Equação 19, segue que:

$$\frac{S}{k} = - \sum_{i=1}^t \left\{ \frac{e^{-E_i/kT}}{Q} \left[\ln \left(\frac{1}{Q} \right) - \frac{E_i}{kT} \right] \right\}$$

$$\frac{S}{k} = - \sum_{i=1}^t \left\{ \frac{e^{-E_i/kT}}{Q} \ln \left(\frac{1}{Q} \right) - \frac{1}{kT} \frac{E_i e^{-E_i/kT}}{Q} \right\}$$

$$\frac{S}{k} = - \sum_{i=1}^t \left\{ \frac{e^{-E_i/kT} \ln \left(\frac{1}{Q} \right)}{Q} - \frac{1}{kT} \frac{E_i e^{-E_i/kT}}{Q} \right\}$$

$$\frac{S}{k} = - \sum_{i=1}^t \frac{e^{-E_i/kT} \ln \left(\frac{1}{Q} \right)}{Q} + \sum_{i=1}^t \frac{1}{kT} \frac{E_i e^{-E_i/kT}}{Q}$$

$$\frac{S}{k} = - \sum_{i=1}^t \frac{- e^{-E_i/kT} \ln Q}{Q} + \frac{1}{kT} \sum_{i=1}^t \frac{E_i e^{-E_i/kT}}{Q}$$

$$\frac{S}{k} = \ln Q \sum_{i=1}^t \frac{e^{-E_i/kT}}{Q} + \frac{1}{kT} \frac{\sum_{i=1}^t E_i e^{-E_i/kT}}{Q}$$

$$\frac{S}{k} = \ln Q \frac{\sum_{i=1}^t e^{-E_i/kT}}{Q} + \frac{1}{kT} U \tag{23},$$

sendo U a energia interna do sistema, dada por:

$$U = \sum_{i=1}^t p_i E_i = \sum_{i=1}^t \frac{e^{-E_i/kT}}{Q} E_i = \frac{\sum_{i=1}^t E_i e^{-E_i/kT}}{Q} \quad (24).$$

Portanto, da Equação 23, segue que:

$$\frac{S}{k} = \ln Q + \frac{U}{kT} \quad (25).$$

Para um sistema de N partículas independentes e distinguíveis, para o qual Q é dada pela Equação 22, a Equação 25 fornece:

$$S = kN \ln q + \frac{U}{T} .$$

Assim, partindo de modelos microscópicos e da função de partição Q de um sistema, pode-se calcular teoricamente propriedades termodinâmicas macroscópicas tais como energia interna e entropia (equações 24 e 25, respectivamente).

2.3.3 Correções térmicas para a energia interna de um sistema

Para prever as propriedades de substâncias e materiais a partir das propriedades dos átomos ou moléculas que as compõem, conforme visto na seção 2.3, é necessário conhecer os i níveis de energia acessíveis a estes últimos (uma vez que para sistemas microscópicos, somente valores definidos de energia são permitidos e diz-se, então, que a energia é quantizada).

Na natureza, níveis de energia formam uma hierarquia e são associados aos fenômenos de translação, rotação, vibração, excitação eletrônica, e outros.

Níveis de energia podem ser obtidos a partir da Espectroscopia ou da Mecânica Quântica. No que diz respeito à Mecânica Quântica e sua descrição ondulatória da matéria, esses níveis de energia podem ser obtidos a partir da resolução da equação de Schrödinger (Equação 1). No entanto, quando se consideram somente os termos cinético e potencial correspondentes às interações entre os elétrons e núcleos que compõem um dado sistema, ou seja, quando se considera um operador hamiltoniano tal qual o descrito pela Equação 3, os níveis de energia obtidos correspondem à situação na qual o referido sistema se encontra estático. Sendo assim, para que possam ser incorporados os movimentos descritos anteriormente (translação, rotação e vibração), ou seja, o efeito da temperatura sobre a energia do sistema, modelos quanto-mecânicos correspondentes a estes movimentos e respectivos potenciais precisam ser considerados.

Uma vez que estas quantidades de energia associadas aos referidos movimentos são calculadas e agrupadas num único termo, e posteriormente adicionadas à energia interna calculada para o sistema estático (à temperatura de 0 K), diz-se que estas constituem o termo de correção térmica para a energia interna.

Para a descrição dos movimentos translacionais, rotacionais e vibracionais, modelos simples tais como o de partícula na caixa, o rotor rígido e oscilador harmônico, bem como o modelo de gás ideal, são freqüentemente utilizados, fornecendo os respectivos i níveis de energia (estados) associados a estes movimentos:

$$\varepsilon_{n_x, n_y, n_z}^{trans} = \frac{h^2}{8m} \left(\frac{n_x^2}{a^2} + \frac{n_y^2}{b^2} + \frac{n_z^2}{c^2} \right),$$

sendo $\varepsilon_{n_x, n_y, n_z}$ a expressão para os níveis de energia translacional, onde h é a constante de Planck ($h = 6,6260693 \times 10^{-34}$ Js), m é a massa da partícula e a , b e c as dimensões da 'caixa',

$$\varepsilon_v^{vib} = \frac{h^2}{8m} \left(v + \frac{1}{2} \right) h\nu,$$

sendo ε_v^{vib} a expressão para o n ésimo (n) nível de energia vibracional, onde ν é a freqüência vibracional do oscilador harmônico, dada por:

$$\nu = \left(\frac{1}{2\pi} \right) \left(\frac{k_s}{m} \right)^{1/2},$$

sendo k_s a constante de força para a vibração da partícula e

$$\varepsilon_J^{rot} = \frac{J(J+1)h^2}{8\pi^2 I},$$

sendo ε_J^{rot} a expressão para os níveis de energia rotacional e I o momento de inércia para um sistema com simetria esférica, dado por:

$$I = mR^2, \text{ onde } R \text{ é a distância de rotação orbital a um dado centro de rotação.}$$

Logo, as funções de partição para os movimentos de translação, rotação e vibração podem ser obtidas (Equações 26-28) e, a partir da expressão da energia para um gás ideal, as contribuições à energia interna provenientes destes movimentos podem ser contabilizadas e adicionadas a esta última, fornecendo a energia do sistema numa dada temperatura T .

$$q^{trans} = \frac{V}{\Lambda^3} \quad (26),$$

onde V é o volume da ‘caixa’ e Λ^3 , que possui unidade de volume, é dado por:

$$\Lambda^3 = \left(\frac{h^2}{2\pi mkT} \right)^{3/2}$$

$$q^{vib} = \frac{e^{-hv/2kT}}{1 - e^{-hv/2kT}} \quad (27) \text{ e}$$

$$q^{rot} = \frac{(\pi I_a I_b I_c)^{1/2}}{\sigma} \left(\frac{8\pi^2 kT}{h^2} \right)^{3/2} \quad (28),$$

sendo q^{rot} válida para moléculas não lineares, I_a , I_b e I_c os três momentos de inércia principais e σ um fator de simetria nuclear e rotacional que representa o número de orientações equivalentes de uma molécula.

Sendo a energia de um gás ideal dada por:

$$U = NkT^2 \left(\frac{\partial \ln q}{\partial T} \right),$$

onde N é o número de moléculas,

por substituição das funções de partição translacional, vibracional e rotacional (Equações 26-28), obtém-se as respectivas contribuições à energia interna de um sistema calculada à temperatura de 0 K:

$$\langle E^{trans} \rangle = \frac{3}{2} kT \quad (29),$$

$$\langle E^{vib} \rangle = kT \quad (30) \text{ e}$$

$$\langle E^{rot} \rangle = \frac{3}{2} kT \quad (31),$$

onde as Equações 29-30 descrevem as componentes de correção da energia interna para os movimentos translacionais, vibracionais e rotacionais, respectivamente, que freqüentemente são agrupadas, fornecendo um único termo de correção dito termo de correção térmica para a energia interna:

$$U_{term} = \langle E^{trans} \rangle + \langle E^{vib} \rangle + \langle E^{rot} \rangle = \frac{3}{2} kT + kT + \frac{3}{2} kT = 4kT .$$

2.4 A descrição de sistemas solvatados

A simulação quanto-mecânica do efeito de solvatação sobre um sistema pode ser feita segundo duas aproximações: segundo um modelo discreto de solvatação (aproximação da supermolécula) ou um modelo contínuo de solvatação. A aproximação da supermolécula inclui moléculas de solvente explícitas em torno do soluto, o que a torna bastante cara computacionalmente, e fornece informações sobre a estrutura da camada de solvatação. Modelos contínuos não fornecem a mesma informação mas incluem interações de longo alcance, importantes na estabilização de zwitterions (formas moleculares neutras com separação de carga)⁴⁸. Adicionalmente, modelos contínuos podem fornecer geometrias e frequências vibracionais para este tipo de sistema em solução, sendo somente pouco mais dispendiosos computacionalmente que estudos teóricos realizados no vácuo.

Modelos contínuos têm sido amplamente utilizados na simulação do efeito de solventes sobre a conformação e a energia dos mais variados sistemas⁴⁹. Entre os muitos métodos utilizados, o método PCM, em seu formalismo de equação integral (IEFPCM)^{50,51}, introduzido no início dos anos 90, tem demonstrado descrever de forma satisfatória sistemas em meio aquoso⁵² e, sendo assim, foi a aproximação escolhida para tratar o solvente neste trabalho.

Considerando não mais o sistema isolado e sim na presença de um potencial externo (que simula o meio aquoso), foi introduzido o modelo de contínuo polarizável,

em seu formalismo de equação integral (IEFPCM)^{50,51}. Neste modelo, o solvente é descrito como um meio dielétrico contínuo, polarizado pela presença do soluto. Um termo que representa a interação eletrostática soluto-solvente é adicionado ao hamiltoniano do soluto. A equação de Schrödinger resultante, resolvida auto-consistentemente, fornece a contribuição eletrostática para a energia em solução, bem como a função de onda do soluto modificada devido à polarização mútua de soluto e solvente. A energia total em solução é obtida através da adição dos termos ditos não eletrostáticos (denominados termos de cavitação, de dispersão e de repulsão)⁵³. Neste modelo, a molécula de soluto é disposta dentro de uma cavidade aberta neste contínuo - cuja forma acompanha a geometria da molécula de soluto e as cargas que simulam a polarização do solvente são localizadas na superfície desta. Nesta aproximação, a energia G do sistema (soluto) pode ser escrita como na expressão abaixo, onde aparecem quatro componentes:

$$G_{\text{soluto}} = G_{\text{ele}} + G_{\text{disp-rep}} + G_{\text{cav}} + G_{\text{MM}} ,$$

G_{ele} é a componente eletrostática, $G_{\text{disp-rep}}$ a componente de dispersão-repulsão, G_{cav} a componente de cavitação e G_{MM} a componente de movimento molecular.

Na versão utilizada do modelo PCM (IEFPCM), somente a primeira componente é introduzida no hamiltoniano do sistema. A segunda e a terceira são contabilizadas através de expressões semi-empíricas, e a última não é computada.

Neste trabalho, as cavidades moleculares foram construídas através da interligação de esferas centradas em átomos ou grupos de átomos selecionados do soluto. Os raios destas esferas utilizados neste trabalho foram: para os grupamentos CH_3 e CH_2 , 2.40 e 2.28 Å e para os átomos O, P e N, 1.82, 2.16 e 1.86 Å, respectivamente⁵⁴, sendo os referidos valores de raio correspondentes aos raios de Van der Waals para cada átomo ou grupo de átomos, escalados por uma fator de 1.20⁵². Deste modo, obtém-se uma cavidade na qual a primeira camada de solvatação para este sistema vem considerada.

3 METODOLOGIA

Neste trabalho, utilizou-se uma metodologia quanto-mecânica para estudar a conformação de fosfolipídios isolados. Na verdade, neste estudo, restringiu-se esta análise conformacional à porção hidrofílica dos fosfolipídios cujas cabeças polares são constituídas de colina, como mencionado anteriormente.

Sabendo que ligações químicas do tipo sigma permitem a rotação livre em torno de seus eixos de ligação (o que torna possível, então, a existência de diferentes conformações para uma dada estrutura molecular), foi realizado um estudo conformacional a fim de se obter o ordenamento de energia das possíveis conformações para um protótipo de cabeça fosfolipídica constituído de metilfosfocolina (Figura 4).

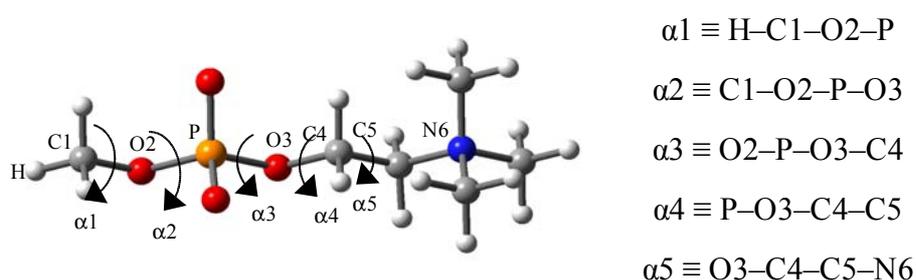


Figura 4. Metilfosfocolina: protótipo de cabeça fosfolipídica de fosfolipídios de colina. Ao lado, são reportados os principais parâmetros geométricos que conferem variação conformacional a este sistema (geometria não otimizada). Figura gerada através do programa Gauss View, em sua versão 2.1 (como todas as outras a seguir apresentadas).

É bem sabido que a busca pelas conformações de menor energia (mais estáveis) para determinado sistema se constitui na primeira etapa de sua avaliação, uma vez que as conformações de menor energia correspondem, numa visão dinâmica do processo, àquelas de maior tempo de residência e, sendo assim, respondem por uma descrição global do referido sistema. Assim, num estudo como este, onde se tem como objetivo obter um protótipo de cabeça fosfolipídica **potencialmente capaz de descrever a superfície fosfolipídica de membranas celulares**, entende-se que esta análise conformacional é particularmente importante para a obtenção de um conjunto confiável de conformações.

3.1 Quanto ao nível de teoria

Na tentativa de uma melhor descrição da parte hidrofílica dos fosfolipídios de colina, escolheu-se utilizar a Teoria do Funcional da Densidade (DFT), sendo os termos de troca e correlação da energia calculados através do funcional híbrido de três parâmetros de Becke (B3LYP)⁵⁵. Com base em trabalhos anteriores^{48,56}, o funcional híbrido B3LYP parece ser adequado para a descrição de sistemas como este.

Para avaliação das integrais que constituem os termos de troca e correlação da energia para o sistema em fase gasosa utilizou-se o “grid” de densidade média - opção automática para cálculos de DFT no programa Jaguar 7.5⁵⁷, enquanto para o sistema em

solução aquosa, utilizou-se o “grid ultrafine” - opção automática para cálculos de DFT no programa Gaussian 2003⁵⁸.

Uma vez que o uso de conjuntos de funções de base com suficiente flexibilidade angular é essencial para a obtenção de propriedades confiáveis para compostos que eventualmente possuam ligações hidrogênio intramoleculares, utilizou-se um conjunto de bases zeta-duplo (DZ) para a expansão dos orbitais de Khon-Shan, sobre funções de polarização do tipo d e p (6-31G(d,p))⁵⁹.

3.2 Quanto à análise conformacional

3.2.1 Obtenção das superfícies de energia potencial

No que diz respeito à variação conformacional do sistema em estudo, pode-se dizer que esta se deve, primeiramente, ao fato do mesmo possuir ligações C–O–P–O–C, isto é, uma sequência de ligações entre átomos com pares de elétrons isolados. Isso dificulta, por pura inspeção visual, a determinação das conformações de menor energia. Assim, considerando a variação dos ângulos diedros α_1 , α_2 , α_3 e α_4 - ou seja, a rotação em torno dos eixos das ligações C1–O2, O2–P, P–O3 e O3–C4, respectivamente (Figura 4), foram obtidas superfícies de energia potencial para este sistema considerando tais movimentos.

Admitindo que as variações dos ângulos diedros α_3 e α_4 sejam aquelas que mais afetam a energia de uma dada conformação (uma vez que envolvem mudanças nas coordenadas de átomos com desequilíbrio de cargas), este par de ângulos foi o primeiro a ser investigado. Considerando, então, este par de parâmetros, obteve-se uma superfície de energia potencial para o sistema. A obtenção desta superfície se deu mediante a variação sistemática do ângulo diedro α_4 , em 12 passos, com incrementos de 30°. Cada uma das 12 estruturas assim geradas teve sua geometria otimizada, mantendo-se fixados seus respectivos valores de ângulo diedro α_4 . A seguir, para cada uma das 12 estruturas otimizadas (mantidos fixados seus respectivos valores de α_4), o mesmo procedimento foi repetido, agora para a variação sistemática de α_3 , totalizando 144 otimizações de geometria. Nesse ponto, cabe salientar que para a obtenção desta superfície todos os parâmetros geométricos do sistema foram relaxados, exceto os ângulos diedros α_3 e α_4 , que permaneceram fixados em cada uma das 144 otimizações de geometria. A estrutura de partida para a construção deste mapa conformacional foi tomada como aquela obtida através da otimização de geometria (B3LYP/6-31G(d,p)) da conformação reportada como mais estável em fase gasosa por Landin e colaboradores³⁴.

A seguir, foram construídas as conformações correspondentes a cada uma das regiões de mais baixa energia identificadas no mapa conformacional obtido. A construção dessas conformações se deu através do ajuste dos parâmetros α_3 e α_4 na estrutura tomada como geometria de partida para a obtenção do respectivo mapa. Numa etapa posterior, essas estruturas tiveram suas geometrias totalmente otimizadas e, a seguir, cada uma delas foi tomada como estrutura de partida para a obtenção de novas superfícies de energia potencial, que consideram agora a variação dos ângulos diedros α_1 e α_2 . Todos os cálculos descritos anteriormente foram realizados através do programa Jaguar 6.0⁶⁰.

A obtenção dessas novas superfícies se deu conforme o procedimento descrito anteriormente, mantendo-se fixados durante este processo os respectivos valores de α_3 e α_4 . Neste caso, os valores de ângulo diedro α_2 foram variados sistematicamente e, para

cada uma das 12 estruturas geradas, foi realizada a variação sistemática de α_1 .

A seguir, foram construídas as estruturas correspondentes às respectivas regiões de energia mínima para cada um destes mapas conformacionais, que foram totalmente otimizadas, gerando, assim, um conjunto de conformações cujos parâmetros α_1 , α_2 , α_3 e α_4 minimizam a energia do sistema. Para a realização das etapas anteriores, bem como para todas aquelas descritas a seguir (salvo quando devidamente mencionado), utilizou-se o programa Jaguar, em sua versão 7.5⁵⁷.

Todos os cálculos mencionados anteriormente foram obtidos em nível B3LYP/6-31G(d,p). Os mapas conformacionais apresentados neste trabalho foram gerados através da interpolação de seus respectivos conjuntos de dados de energia, através do método de Funções de Base Radiais, implementado no programa Surfer 8.

3.2.2 Análise conformacional da ligação C4–C5

Considerando o último parâmetro geométrico a ser avaliado na estrutura de todos os confôrmeros possíveis para a metilfosfocolina - o ângulo diedro α_5 , foram calculadas as energias dos sistemas obtidos através da variação sistemática do ângulo diedro α_5 para cada um dos confôrmeros pertencentes ao conjunto de conformações cujos parâmetros α_1 , α_2 , α_3 e α_4 minimizam a energia do sistema. Uma vez que para ligações químicas do tipo sigma entre átomos de C (como é o caso da ligação C4–C5) as conformações ditas alternadas são aquelas que correspondem aos pontos de mais baixa energia numa curva de energia potencial, somente foram considerados os valores de 60°, 180° e 300° para este parâmetro, nesta análise.

Para cada um dos confôrmeros pertencentes ao conjunto supracitado, mantendo-se fixados seus valores de α_1 , α_2 , α_3 e α_4 , foram impostos ao ângulo diedro α_5 os valores de 60°, 180° e 300°, gerando assim, 3 conformações distintas. A seguir, mantendo-se fixados todos estes parâmetros geométricos, cada uma das estruturas passou por um processo de otimização de geometria (B3LYP/6-31G(d,p)). Dessa forma, obteve-se uma curva de energia potencial que avalia a variação da energia de cada um destes sistemas em função dos três possíveis valores para o ângulo diedro α_5 .

Na etapa seguinte, cada uma destas estruturas passou por um processo de otimização completa de geometria. Nesta etapa, foram avaliadas as influências do tamanho do conjunto de funções de base e da densidade do “grid” de integração dos funcionais de troca e correlação sobre a geometria e a energia deste sistema.

A fim de certificar-nos de que a dimensão do conjunto de funções de base não altera significativamente a estabilidade relativa dos confôrmeros obtidos em fase gasosa, as estruturas provenientes da curva de energia potencial em fase gasosa foram totalmente otimizadas (sendo o “grid” de integração “medium” aquele utilizado para avaliação dos funcionais de troca e correlação) com dois conjuntos de base distintos, a saber: 6-31G(d,p) e 6-311++G(d,p)⁶¹.

Com o objetivo de avaliar a influência da densidade do “grid” de integração dos funcionais supracitados, o conjunto de confôrmeros proveniente da otimização completa de geometria de cada uma das conformações oriundas da curva de energia potencial para variação de α_5 (6-31G(d,p), “grid medium”), foi reotimizado, agora com o “grid” de integração “maximum”, mantendo-se este último conjunto de funções de bases.

3.3 Sistemas solvatados

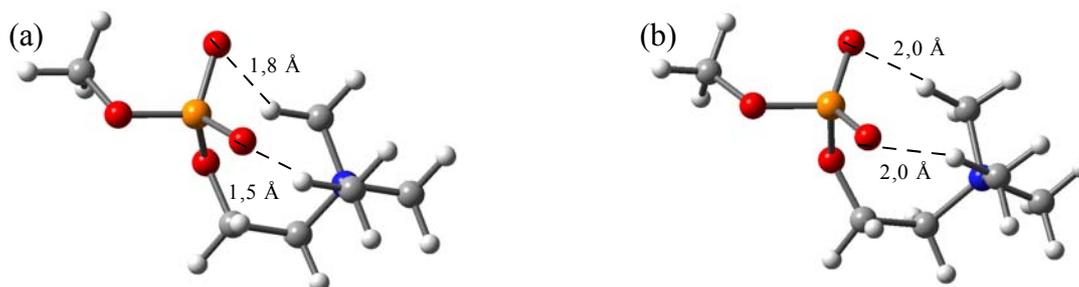
Em relação à solvatação, foram utilizadas três abordagens distintas. Na primeira, todos os confôrmeros pertencentes ao conjunto completo de conformações estáveis em fase gasosa para este sistema foram solvatados, com cálculos tipo “single-point”, na geometria do vácuo. Numa segunda descrição, eles foram totalmente otimizados em solução segundo o referido modelo de solvatação. Finalmente, na terceira abordagem, um novo mapa conformacional relaxado foi obtido para o sistema, considerando em todos os seus pontos a interação soluto-solvente.

Para os cálculos realizados com o modelo de contínuo polarizável, todos em nível B3LYP/6-31G(d,p), utilizou-se o programa Gaussian 2003⁵⁸.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Fase gasosa

Na Figura 5 é mostrada a conformação de partida para a construção do mapa conformacional que representa a influência da variação dos ângulos diedros α_3 e α_4 sobre a energia do sistema.



$\alpha/^\circ$	a	b
α_2	280	284
α_3	259	247
α_4	242	249
α_5	64	64

Figura 5. (a) Estrutura reportada por Landin e colaboradores³⁴ como aquela mais estável em fase gasosa, otimizada em nível HF/6-31+G(d). (b) Estrutura de partida para a construção de mapa conformacional. Esta estrutura provém da otimização de geometria, em nível B3LYP/6-31G(d,p), da conformação reportada por Landin e colaboradores. A tabela apresenta os valores dos parâmetros geométricos avaliados por Landin e colaboradores em sua busca conformacional. Nesta Figura, também são apresentadas as distâncias entre os átomos de H de dois dos grupamentos metila ligados ao átomo de N e os átomos de O não esterificados do grupo fosfato.

Considerando os resultados apresentados na Figura 5, a inclusão de correlação eletrônica para este sistema parece influenciar, principalmente, as distâncias entre os átomos de H dos grupos metila ligados ao átomo de N e aqueles de O não esterificados. Dessa forma, são obtidas conformações onde estas interações são menos pronunciadas e que, conseqüentemente, apresentam uma separação de cargas mais efetiva.

O mapa conformacional gerado através da variação sistemática dos parâmetros geométricos α_3 e α_4 é apresentado na Figura 6. Nele, identificam-se quatro regiões de energia mínima, denominadas **1**, **2**, **3** e **4** (Tabela 1), que definem os pares de valores α_3 e α_4 correspondentes às conformações com valores de mais baixa energia.

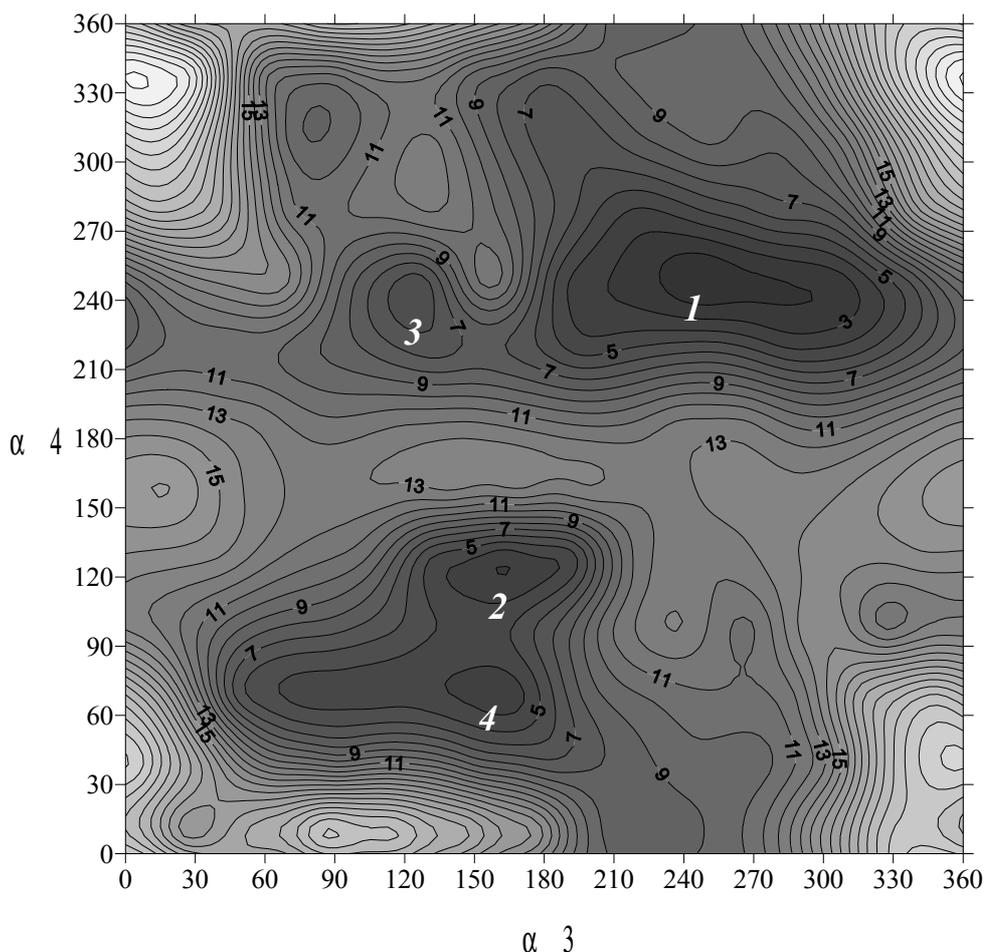


Figura 6. Mapa conformacional relaxado em fase gasosa para a variação sistemática dos ângulos diedros α_3 e α_4 , em graus, B3LYP/6-31G(d,p), com 144 pontos interpolados. Os valores de energia relativa estão em kcal/mol.

Tabela 1. Valores dos ângulos diedro α_3 e α_4 , em graus, que correspondem às regiões de mais baixa energia identificadas como *1*, *2*, *3* e *4*, no mapa conformacional da Figura 6.

Região do mapa	α_3	α_4
<i>1</i>	250	250
<i>2</i>	160	120
<i>3</i>	120	240
<i>4</i>	160	60

Através da otimização de todos os parâmetros geométricos para cada uma das quatro conformações correspondentes às regiões de energia mínima identificadas no mapa conformacional anterior, foram obtidas três conformações estáveis (de mais baixa energia). A Tabela 2 reporta os valores otimizados dos principais parâmetros geométricos deste sistema para cada uma destas conformações, bem como seus valores de energia relativa.

Tabela 2. Valores otimizados para os principais parâmetros geométricos associados à variação conformacional para a metilfosfocolina. Os seguintes valores somente levam em consideração a variação de energia proveniente da variação dos ângulos diedro α_3 e α_4 . Os valores de ângulos estão em graus e as energias e entropia relativas em kcal/mol e cal/mol K, respectivamente. Os valores de partida para os ângulos diedro α_1 , α_2 e α_5 em cada uma das estruturas reportadas nesta Tabela são 74, 284 e 64°, respectivamente.

Confôrmero	α_1	α_2	α_3	α_4	α_5	$\Delta U_{T=0K}^0$	$\Delta U_{t\u00e9rm}^0$	ΔS^0	$\Delta G_{T=298K}^0$
1	73	285	247	249	64	0	0	0	0
2	73	285	158	49	64	1,36	0,265	0,360	1,51
3	53	203	201	239	64	3,04	0,026	3,342	2,06

Os conf\u00f4rmeros **2** e **4** convergiram para uma \u00fanica conforma\u00e7\u00e3o, denominada conf\u00f4rmero **2**.

$U_{T=0K}^0$ \u00e9 a energia interna do sistema isolado, \u00e0 temperatura de 0 K. O valor de refer\u00eancia para $U_{T=0K}^0$ \u00e9 -935,325471 hartree.

$U_{t\u00e9rm}^0$ \u00e9 o termo de corre\u00e7\u00e3o da energia para os movimentos vibracionais, rotacionais e translacionais, \u00e0 298,15 K. Neste termo, inclui-se a corre\u00e7\u00e3o para a energia de ponto zero (ZPE). O valor de refer\u00eancia para $U_{t\u00e9rm}^0$ \u00e9 159,326 kcal/mol.

S^0 \u00e9 a entropia do sistema isolado. O valor de refer\u00eancia para S^0 \u00e9 115,626 cal/mol K.

$G_{T=298K}^0$ \u00e9 a energia livre de Gibbs do sistema isolado, \u00e0 298,15K. O valor de refer\u00eancia para $G_{T=298K}^0$ \u00e9 -935,125568 hartree.

A Figura 7 apresenta os valores de popula\u00e7\u00e3o de Boltzmann calculados para cada um dos conf\u00f4rmeros reportados na Tabela 2. Para a obten\u00e7\u00e3o desses valores de popula\u00e7\u00e3o, foi utilizada a Equa\u00e7\u00e3o 20, onde utilizou-se para E_i a energia livre de Gibbs do sistema.

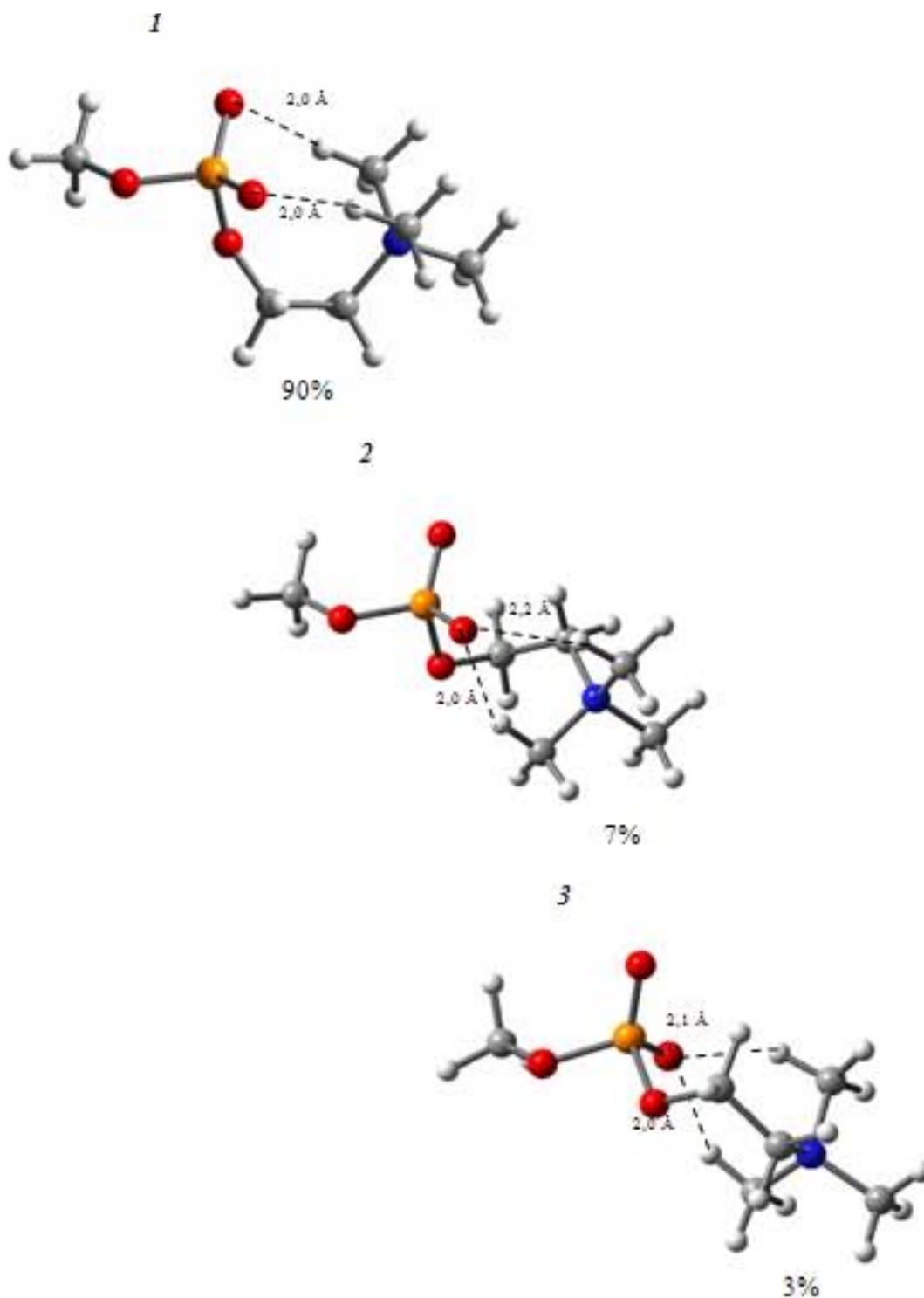


Figura 7. Conformações estáveis em fase gasosa para a metilfosfocolina, quando se considera a variação sistemática dos ângulos diedros α_3 e α_4 e suas respectivas populações de Boltzmann. A numeração *1*, *2* e *3* é referente às conformações da Tabela 2.

Através da análise dos dados da Tabela 2, pode-se concluir que os efeitos

energéticos são aqueles que definem a distribuição relativa destas espécies em fase gasosa, e não aqueles entrópicos. É interessante notar que estes efeitos energéticos incluem, principalmente, a estabilização do sistema por conta de uma distribuição eletrônica de mais baixa energia, e não somente pela possibilidade de formação de ligação H intramolecular (uma vez que todas as 3 conformações encontradas possuem o mesmo número destas ligações). Dito de outra maneira, o impedimento estérico oriundo das orientações relativas entre os átomos de P e aqueles de H ligados ao átomo de C4, parece definir sua estabilidade. A Figura 8 apresenta os confôrmeros 2 e 3, onde se pode observar que a diferença entre os ângulos diedros α_4 responde, em grande parte, pela diferença de energia entre estas espécies.

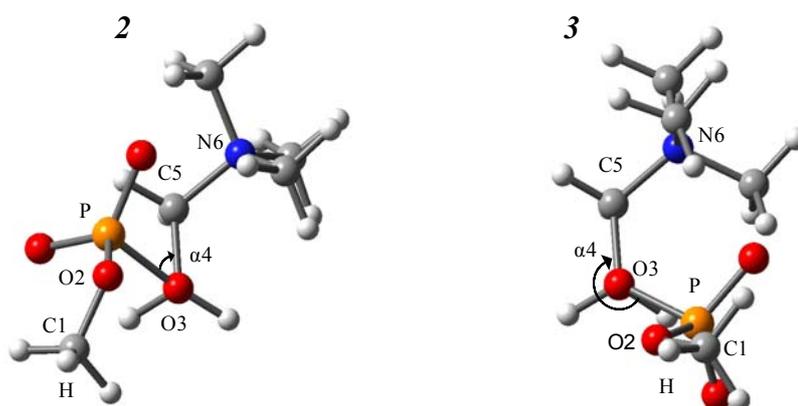


Figura 8. Confôrmeros 2 e 3, respectivamente. As setas curvas indicam a variação do ângulo diedro α_4 .

Com base nas Tabelas 1 e 2, pode-se dizer que a variação do ângulo diedro α_4 pouco influencia as variações dos ângulos α_1 , α_2 e α_3 , conforme observado quando comparam-se os valores iniciais (Tabela 1) e finais destes ângulos (Tabela 2). O mesmo não se pode dizer do ângulo diedro α_3 , uma vez que sua variação parece influenciar severamente os valores assumidos por α_1 e α_2 (confôrmero 3); a dependência entre os valores de α_1 , α_2 e α_3 pode estar associada ao fato das variações em α_3 envolverem a mudança de coordenadas de átomos com desequilíbrio de cargas, além de pares de elétrons isolados, o que obrigaria parâmetros geométricos tais como α_1 e α_2 a se reajustarem.

Através da variação sistemática dos ângulos diedros α_1 e α_2 para cada um dos confôrmeros otimizados, reportados na Tabela 2 (Figura 7), foram gerados os mapas conformacionais apresentados na Figura 9.

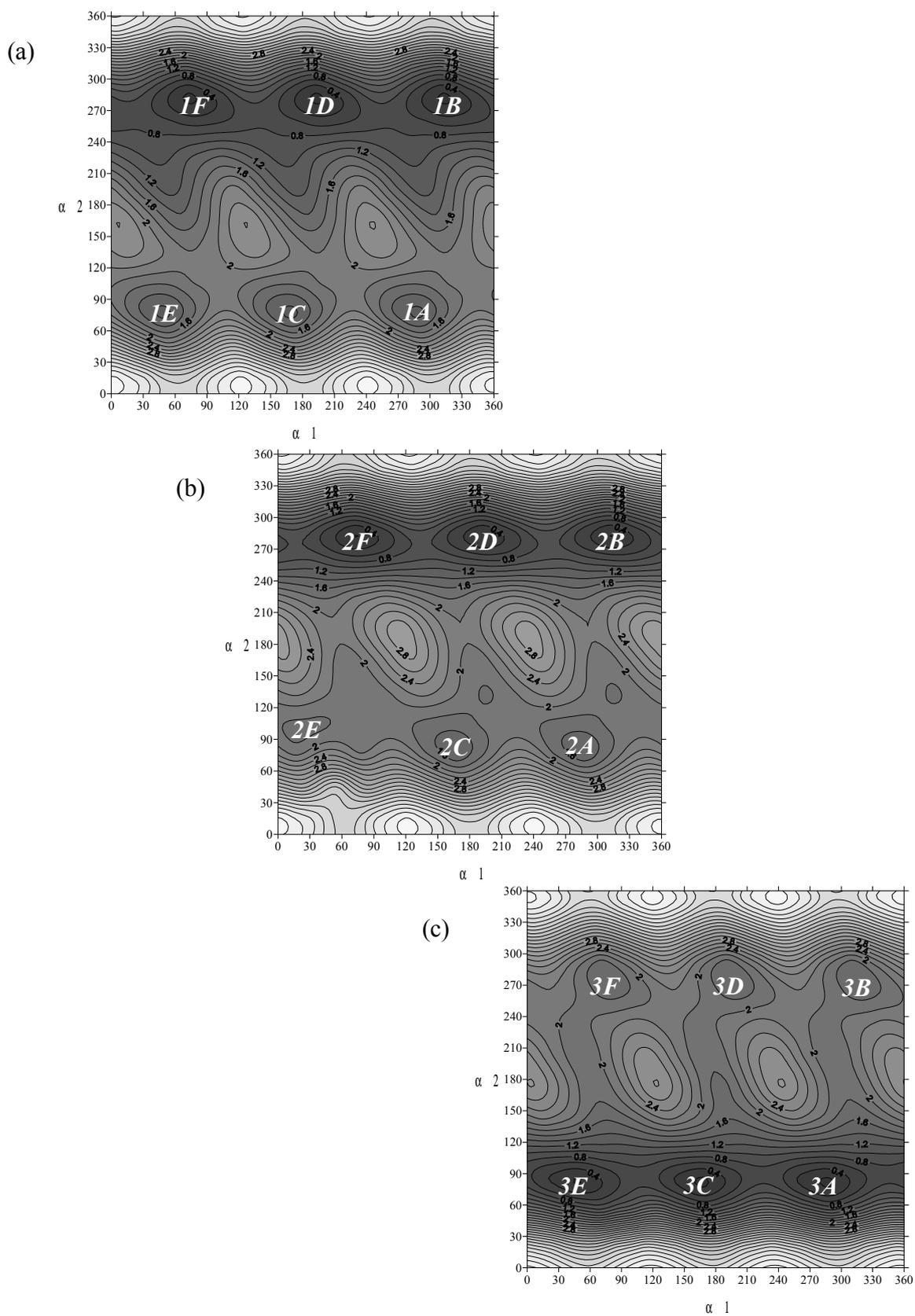


Figura 9. Mapas conformacionais relaxados para o confôrmere 1 (a), 2 (b) e 3 (c). Em todos os mapas foram mantidos fixados os respectivos valores de ângulos diedro α_3 e α_4 . Os valores de energia relativa estão em kcal/mol.

Como se pode observar por inspeção das Figuras 6 e 9, as barreiras de energia associadas às variações de α_3 e α_4 são cerca de 6 vezes superiores àquelas envolvidas nas variações de α_1 e α_2 , fato que corrobora a consideração inicial de que os primeiros são os parâmetros diedrais cuja variação mais afeta a energia do sistema. Analisando o mapa conformacional da Figura 9 (a), conclui-se que existem dois pares de valores de α_1 e α_2 que conferem energia mínima ao sistema ($\alpha_1 = 290^\circ$; $\alpha_2 = 80$ e $\alpha_1 = 315^\circ$; $\alpha_2 = 280$), uma vez que a rotação em torno do eixo da ligação H–C1 (correspondente à variação de α_1) envolve um átomo de hidridação sp^3 (C1) cujos três ligantes são equivalentes. Assim, sendo o ângulo plano medido entre qualquer par destes ligantes (átomos de H ligados ao C1) igual a 120° , quaisquer valores de α_1 diferindo entre si de 120° corresponderão a conformações com geometrias equivalentes. Para o mapa conformacional da Figura 9 (b), existem três destes pares de valores de α_1 e α_2 : $\alpha_1 = 285^\circ$; $\alpha_2 = 85$, $\alpha_1 = 30^\circ$; $\alpha_2 = 100$ e $\alpha_1 = 310^\circ$; $\alpha_2 = 280^\circ$ e para o mapa da Figura 9 (c), existem dois pares de valores: $\alpha_1 = 290^\circ$; $\alpha_2 = 80^\circ$ e $\alpha_1 = 320^\circ$; $\alpha_2 = 275^\circ$. Sendo assim, independentemente dos valores assumidos pelos ângulos diedros α_3 e α_4 , parecem existir apenas duas (ou três) regiões de energia mínima quando se considera a variação sistemática dos parâmetros α_1 e α_2 .

A Tabela 3 reporta os principais parâmetros que definem as geometrias otimizadas correspondentes às regiões de energia mínima para os mapas da Figura 9 (considerando, com base no que foi exposto anteriormente, somente as regiões **A** e **B** e **A**, **B** e **E**), bem como seus respectivos valores de energia e entropia relativa. Esta tabela reporta os conjuntos de parâmetros α_1 , α_2 , α_3 e α_4 otimizados para este sistema.

Tabela 3. Conjuntos de parâmetros α_1 , α_2 , α_3 e α_4 que minimizam a energia para a metilfosfolina em fase gasosa. Os valores de ângulos diedros são reportados em graus e as energias e entropia relativas são dadas em kcal/mol e cal/mol K, respectivamente (B3LYP/6-31G(d,p)).

Confômero	α_1	α_2	α_3	α_4	α_5	$\Delta U_{T=0K}^0$	$\Delta U_{t\acute{e}rm}^0$	ΔS^0	$\Delta G_{T=298K}^0$	
Mapa 1 ¹	A	288	72	241	250	65	0,52	-0,043	-0,503	0,62
	B	313	285	241	250	65	0	0	0	0
Mapa 2 ²	A	283	77	155	49	65	1,12	-0,029	0,311	0,99
	B	312	285	155	49	65	0	0	0	0
Mapa 3 ³	A	286	78	199	238	64	0	0	0	0
	B	314	282	199	238	64	1,48	-0,040	0,290	1,35

1. Os valores de referência para $U_{T=0K}^0$, $U_{t\acute{e}rm}^0$, S^0 e $G_{T=298K}^0$ são -935,325468 hartree, 159,326 kcal/mol, 115,734 cal/mol K e -935,125556 hartree, respectivamente.

2. As estruturas **A** e **E** convergiram para uma única conformação, denominada confômero A. Os valores de referência para $U_{T=0K}^0$, $U_{t\acute{e}rm}^0$, S^0 e $G_{T=298K}^0$ são, -935,323323 hartree, 159,582 kcal/mol, 116,059 cal/mol K e -935,123213 hartree, respectivamente.

3. Os valores de referência para $U_{T=0K}^0$, $U_{t\acute{e}rm}^0$, S^0 e $G_{T=298K}^0$ são -935,323539 hartree, 159,364 cal/mol K, 116,913 cal/mol K e -935,124182 hartree.

Conforme reportado na Tabela 3, os confômeros **1A** e **1B** encontram-se na região de energia mínima denominada **1** no mapa conformacional da Figura 6, bem como os confômeros **2A** e **2B** situam-se na região **4**. Os confômeros **3A** e **3B** situam-se numa região intermediária às regiões **1** e **3**. Sendo assim, considerando como a

variação de cada um destes ângulos diedros influencia a energia calculada para este sistema, pode-se dizer que existe uma ordem crescente de hierarquia entre eles, que é (α_1 ; α_2) e (α_3 ; α_4), uma vez que a variação dos parâmetros α_1 e α_2 parece não influenciar os valores assumidos pelos ângulos diedros α_3 e α_4 .

Sendo assim, tomando como referência as respectivas conformações de menor energia em cada uma das regiões **1**, **2** (**4**) e **3** do mapa conformacional da Figura 3, foram calculadas as populações de Boltzmann para cada um dos confôrmeros da Tabela 3, que correspondem às distribuições de população em cada uma destas regiões (Figura 10).

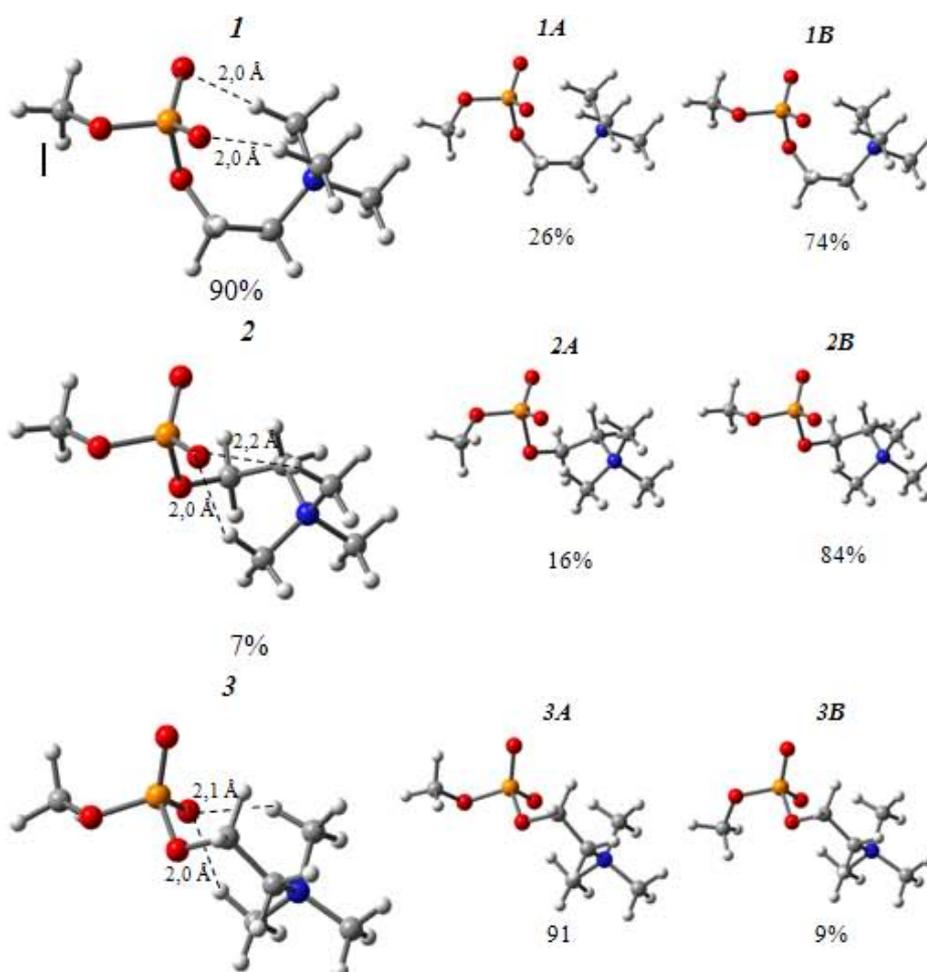


Figura 10. Populações de Boltzmann calculadas para os confôrmeros provenientes da análise conformacional que investiga a influência da variação dos parâmetros α_1 e α_2 sobre a energia do sistema. As conformações **A** e **B** também possuem ligações hidrogênio intramolecular (não representadas), segundo o respectivo padrão presente nas conformações **1**, **2** e **3**, da Figura 7, e aqui novamente reportadas.

Para cada um dos confôrmeros apresentados na Tabela 3, mantendo-se fixados seus valores de α_1 , α_2 , α_3 e α_4 , foram impostos aos seus respectivos ângulos diedros α_5 os valores de 60° , 180° e 300° . Mantendo-se fixados todos estes parâmetros, cada uma destas conformações teve sua geometria otimizada e, ao final deste processo, obteve-se uma curva de energia potencial que avalia a variação da energia de cada um destes sistemas em função dos três possíveis valores para o ângulo diedro α_5 . A Figura 8 apresenta estas curvas de energia potencial.

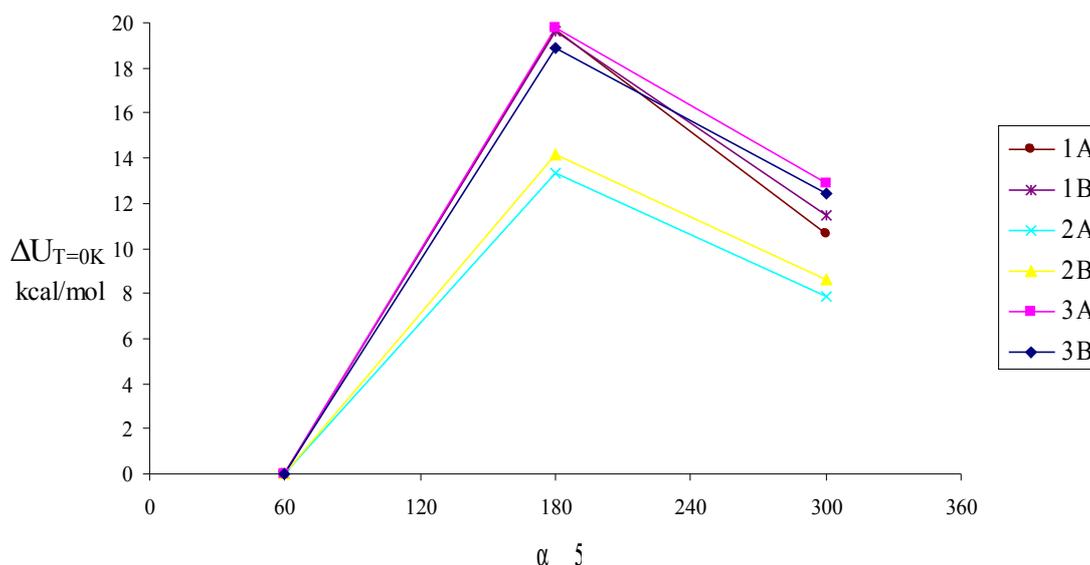


Figura 11. Curvas de energia potencial para a variação sistemática do ângulo diedro α_5 (em graus) de cada uma das conformações cujos parâmetros α_1 , α_2 , α_3 e α_4 minimizam a energia do sistema (B3LYP/6-31G(d,p)). Os valores de energia relativa são dados em kcal/mol.

Através da análise das curvas de energia potencial para este sistema, pode-se perceber que as conformações onde α_5 assume os valores de 180° e 300° são mais instáveis, se comparadas com aquelas onde seu valor é 60° . Esta instabilidade se deve, basicamente, à perda da possibilidade de formação de ligação hidrogênio intramolecular, conforme pode ser observado na Figura 12, que apresenta as conformações onde α_5 vale 180° para cada uma das conformações reportadas na Tabela 3.

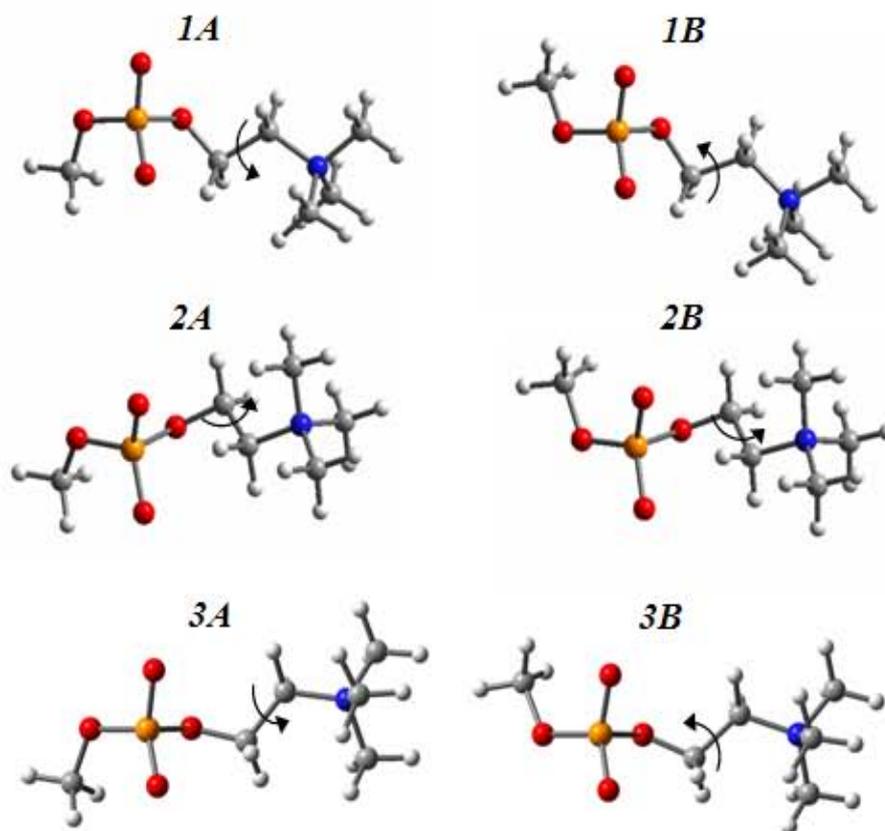


Figura 12. Conformações provenientes da variação sistemática do ângulo diedro α_5 (assinalados pelas setas curvas). Contrariamente às conformações onde α_5 vale 60° , que parecem ser estáveis por conta da possibilidade de formação de ligação hidrogênio intramolecular, as conformações onde este ângulo assume o valor de 180° possuem valores de energia bem superiores àqueles obtidos para estas primeiras.

Ainda com respeito à Figura 11, pode-se dizer que, por conta das altas barreiras de energia associadas à variação do ângulo diedro α_5 , as conformações cujos ângulos assumem o valor de 60° parecem ser aquelas mais estáveis. A variação de energia proveniente da variação deste ângulo para este sistema parece estar fortemente associada a possibilidade ou não de formação de ligação hidrogênio.

Com o objetivo de avaliar a influência do tamanho do conjunto de funções de base sobre a geometria e o ordenamento de energia das possíveis conformações deste sistema em fase gasosa, os confôrmeros provenientes da curva de energia potencial para a variação sistemática de α_5 foram totalmente otimizados com dois conjuntos de funções de base distintos. Todas as 18 otimizações de geometria se deram mediante a utilização do conjunto de funções 6-31G(d,p) e do conjunto zeta-triplo (TZ), ampliado com funções de polarização e difusas em todos os átomos, 6-311++G(d,p). A Figura 13 apresenta os principais parâmetros geométricos otimizados para o referido conjunto de conformações e a Tabela 4 reporta seus respectivos valores de energia e entropia relativa e populações de Boltzmann. Ao final deste processo, acredita-se ter sido obtido o conjunto completo de conformações estáveis em fase gasosa para este sistema.

Tabela 4. Valores de energia e entropia relativa obtidos através da variação sistemática do ângulo diedro α_5 para cada um dos confôrmeros pertencentes ao conjunto de conformações cujos parâmetros α_1 , α_2 , α_3 e α_4 minimizam a energia do sistema. Os valores de energia e entropia relativa estão em kcal/mol e cal/mol K, respectivamente. As populações de Boltzmann estão em porcentagem. Os resultados reportados nesta Tabela são referentes ao processo de otimização completa de geometria utilizando os conjuntos de funções de base 6-31G(d,p) e 6-311++(d,p), DZ e TZ, respectivamente.

Conf.	$\Delta U_{T=0K}^0$		$\Delta U_{\text{tér}}^0$		ΔS^0		$\Delta G_{T=298K}^0$		p_i	
	DZ	TZ	DZ	TZ	DZ	TZ	DZ	TZ	DZ	TZ
<i>1A_60</i>	0,52	0,86	-0,039	-0,026	-0,612	-0,349	0,66	0,93	11	8
1A_180	4,79	4,14	0,122	0,175	0,445	0,115	4,78	4,28	0	0
1A_300	3,43	3,25	0,092	0,093	1,504	2,333	3,07	2,64	0	0
<i>1B_60</i>	-0,01	-0,01	0,004	0,013	-0,055	-0,105	0,01	0,03	33	35
1B_180	7,21	6,07	0,003	0,051	2,364	2,422	6,51	5,40	0	0
1B_300	2,43	2,04	0,278	0,236	1,556	1,919	2,25	1,70	1	2
<i>2A_60</i>	2,46	2,52	0,235	0,184	0,504	-0,062	2,54	2,72	0	0
2A_180		4,62		0,160		0,331		4,68		0
2A_300	0	0	0	0	0	0	0	0	34	36
<i>2B_60</i>	1,34	1,34	0,273	0,242	0,151	-0,127	1,57	1,62	2	2
2B_180		4,14		0,173		0,120		4,28		0
2B_300	0,52	0,86	-0,039	-0,031	-0,616	-0,443	0,67	0,96	11	7
<i>3A_60</i>	1,20	0,96	0,044	0,034	1,093	0,721	0,92	0,78	7	10
<i>3B_60</i>	2,68		0,002		1,340		2,28		1	
3B_180	5,34	4,61	0,097	0,159	0,919	0,297	5,17	4,68	0	0

1. Nesta tabela, as notações *_60, *_180 e *_300 referem-se aos valores de partida para o ângulo diedro α_5 em cada uma das otimizações de geometria e as conformações grifadas em itálicos são àquelas que permanecem nas regiões de energia mínima identificadas no mapa conformacional da Figura 6.

2. Para o conjunto de funções de base DZ, os valores de referência para $U_{T=0K}^0$, $U_{\text{tér}}^0$, S^0 e $G_{T=298K}^0$ são -935,325456 hartree, 159,323 kcal/mol, 115,826 cal/mol K e -935,125647 hartree. Para o conjunto TZ, os valores de referência para $U_{T=0K}^0$, $U_{\text{tér}}^0$, S^0 e $G_{T=298K}^0$ são -935,513625 hartree, 158,409 kcal/mol, 117,294 cal/mol K e -935,315969 hartree.

Para o conjunto de funções de base DZ, as conformações 2A_180 e 2A_300 convergiram para um único confôrmero, bem como as conformações 2B_180 e 2B_300, sendo renomeadas 2A_300 e 2B_300, respectivamente. Para ambos os conjuntos de funções de base, as conformações 1A_180 e 3A_180 convergiram para um único confôrmero, bem como as conformações 1A_300 e 3A_300 e 1B_300 e 3B_300, sendo renomeadas 1A_300, 1B_300 e 1A_300, respectivamente. Para o conjunto TZ, as conformações 1A_60 e 3B_60 também convergiram para um único confôrmero, denominado confôrmero 1A_60.

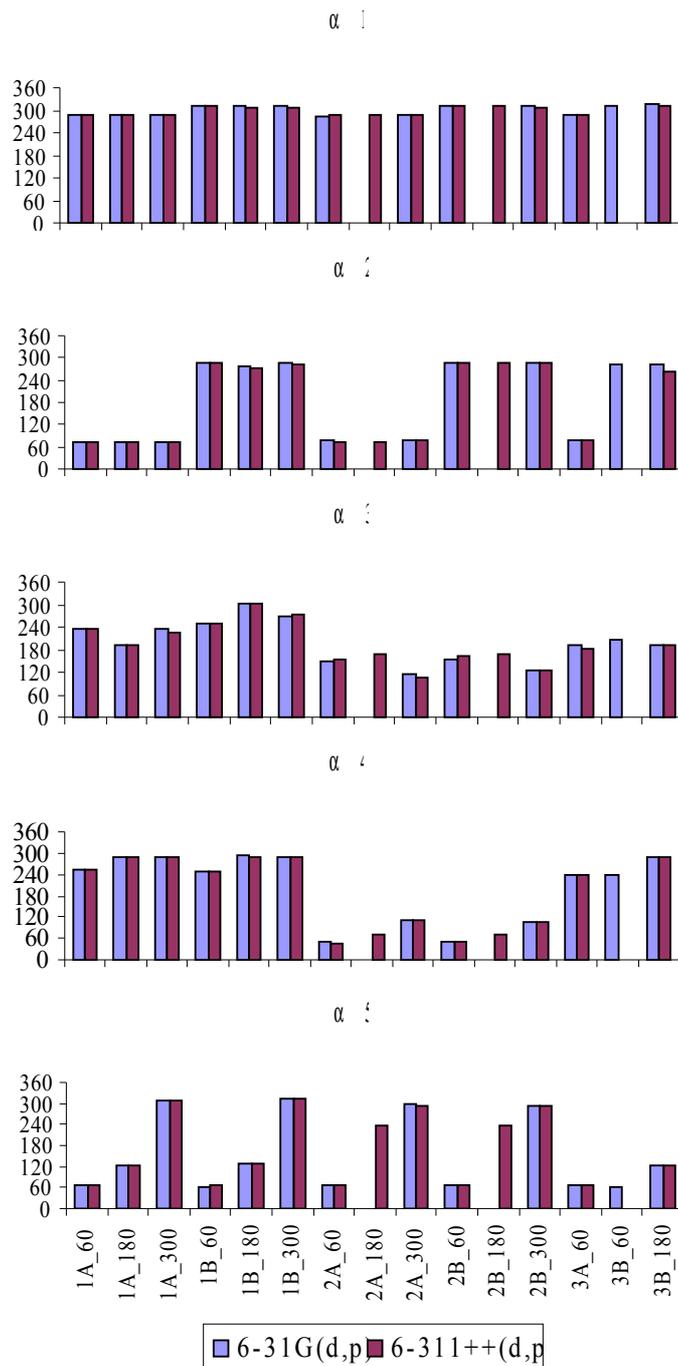


Figura 13. Comparação entre os valores otimizados para os principais parâmetros geométricos obtidos a partir da variação sistemática do ângulo diedro α_5 (graus) para cada um dos confôrmeros pertencentes ao conjunto de conformações cujos parâmetros α_1 , α_2 , α_3 e α_4 minimizam a energia do sistema.

Com base na Tabela 4 e na Figura 13 observa-se que o tamanho do conjunto de funções de base parece não influenciar as conformações dos confôrmeros mais estáveis da metilfosfolina em fase gasosa, tampouco o ordenamento de energia entre eles. De fato, existe variação em relação ao número de confôrmeros estáveis em fase gasosa,

uma vez que para o conjunto DZ se obtém 13 conformações de mais baixa energia, enquanto para o TZ são obtidas 14 conformações. No entanto, considerando as conformações com população de Boltzmann não nula, os conjuntos de confôrmeros estáveis em fase gasosa obtidos com ambas as funções de base são absolutamente equivalentes.

Uma vez que o conjunto de funções de base 6-31G(d,p) fornece resultados equivalentes àqueles obtidos com um conjunto de funções de base maior (6-311++G(d,p)), adotou-se o primeiro para o estudo conformacional em solução aquosa.

Sendo assim, a fim de avaliar a influência da densidade do “grid” de integração dos funcionais de troca e correlação sobre a conformação e a energia deste sistema - dado que “grids” mais acurados são fortemente recomendados para cálculos de energia finais, de otimização de geometria, bem como para cálculos de frequência⁴², todos os confôrmeros obtidos através da otimização completa de geometria com o conjunto de funções de base 6-31G(d,p) (Tabela 4, Figura 13) foram reotimizados com o “grid” de integração “maximum”⁵⁷. A Figura 14 apresenta os principais parâmetros geométricos otimizados para o referido conjunto de conformações considerando ambos os “grids” de integração e na Tabela 5 estão listados seus respectivos valores de energia relativa e populações de Boltzmann.

Tabela 5. Conjunto de conformêros estáveis em fase gasosa reotimizados em nível B3LYP/6-31G(d,p), sendo o “grid” de integração “maximum” aquele utilizado para a avaliação dos termos de troca e correlação. A fim de mais facilmente comparar-se os respectivos valores para ambos os “grids” de integração (“medium” e “maximum”), também são reportados os respectivos valores obtidos com o “grid” de integração “medium” (Tabela 4, DZ). Os valores de energia e entropia relativa e de população de Boltzmann estão em kcal/mol, cal/mol K e porcentagem, respectivamente. Nesta Tabela, as terminologias Med e Max referem-se aos “grids” de integração “medium” e “maximum”, respectivamente.

Conf.	$\Delta U_{T=0K}^0$		$\Delta U_{t\acute{e}rm}^0$		ΔS^0		$\Delta G_{T=298K}^0$		p_i	
	Med	Max	Med	Max	Med	Max	Med	Max	Med	Max
<i>1A_60</i>	0,52	0	-0,039	-0,038	-0,612	-0,527	0,66	0,60	11	12
1A_180	4,79	4,21	0,122	0,122	0,445	0,494	4,78	4,67	0	0
1A_300	3,43	2,86	0,092	0,089	1,504	1,615	3,07	2,95	0	0
<i>1B_60</i>	-0,01	-0,49	0,004	0,003	-0,055	-0,010	0,01	0	33	32
1B_180	7,21	6,64	0,003	-0,007	2,364	2,474	6,51	6,38	0	0
1B_300	2,43	1,87	0,278	0,271	1,556	1,718	2,25	2,12	1	1
<i>2A_60</i>	2,46	1,91	0,235	0,229	0,504	0,611	2,54	2,44	0	0
2A_300	0	-0,49	0	0	0	0	0	0	34	32
<i>2B_60</i>	1,34	0,80	0,273	0,275	0,151	0,321	1,57	1,47	2	3
2B_300	0,52	0	-0,039	-0,040	-0,616	-0,504	0,67	0,60	11	12
<i>3A_60</i>	1,20	0,65	0,044	0,042	1,093	1,215	0,92	0,82	7	8
3B_60	2,68	2,14	0,002	-0,001	1,340	1,600	2,28	2,15	1	0
3B_180	5,34	4,76	0,097	0,092	0,919	0,933	5,17	5,06	0	0

1. Nesta tabela, as conformações grifadas em itálicos são àquelas que permanecem nas regiões de energia mínima identificadas no mapa conformacional da Figura 6.

2. Para o “grid maximum”, os valores de referência para $U_{T=0K}^0$, $U_{t\acute{e}rm}^0$, S^0 e $G_{T=298K}^0$ são -935,325243 hartree, 159,297 kcal/mol, 115,739 cal/mol K e -935,125434 hartree.

3. Para o “grid medim”, os valores de referência para $U_{T=0K}^0$, $U_{t\acute{e}rm}^0$, S^0 e $G_{T=298K}^0$ são -935,325456 hartree, 159,323 kcal/mol, 115,826 cal/mol K e -935,125647 hartree.

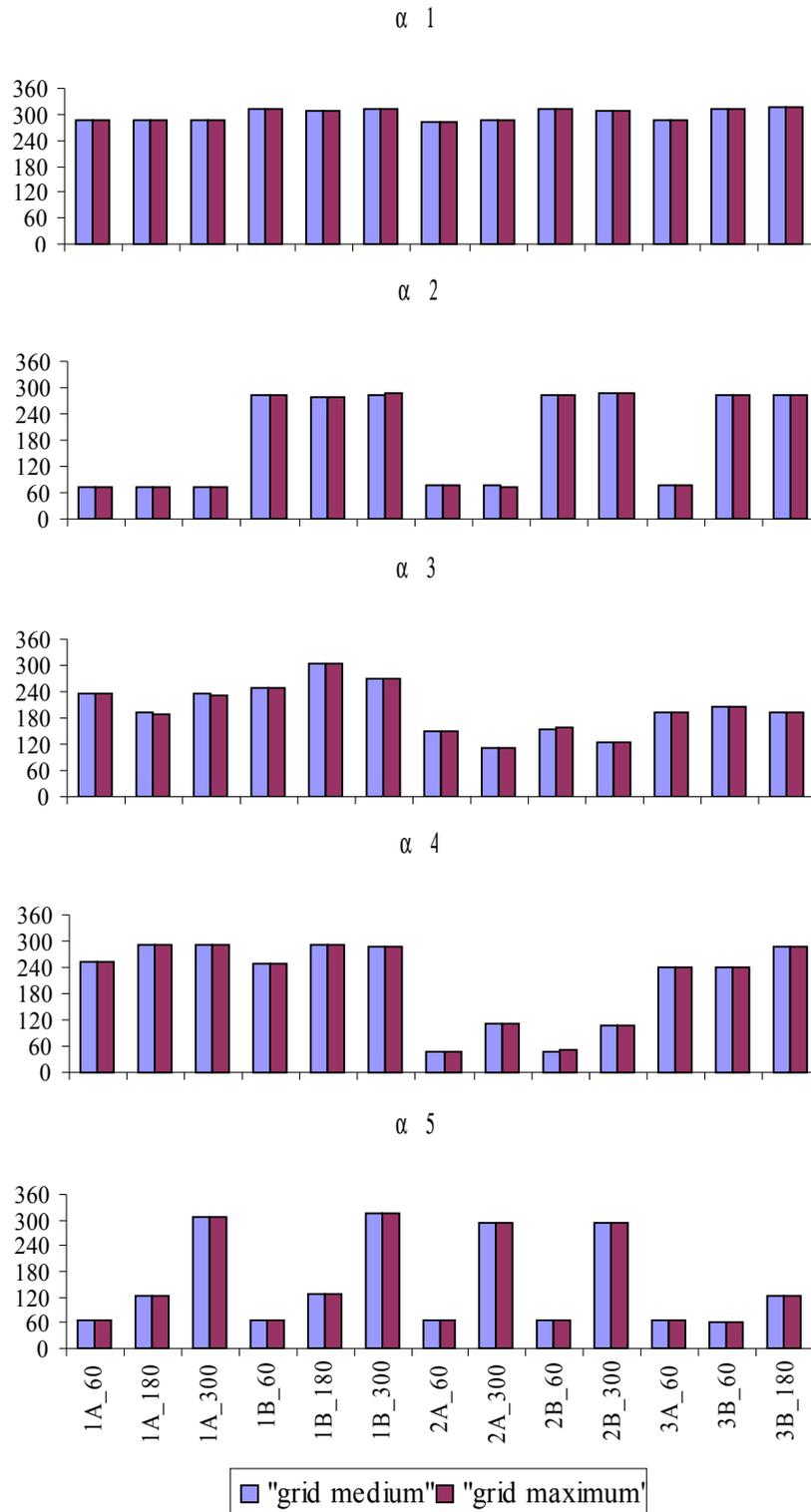


Figura 14. Comparação entre os valores otimizados para os principais parâmetros geométricos obtidos a partir da variação sistemática do ângulo diedro $\alpha 5$ (em graus) para cada um dos confôrmeros pertencentes ao conjunto de conformações cujos parâmetros $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$ e $\alpha 4$ minimizam a energia do sistema.

Por inspeção da Tabela 5 e da Figura 14, nota-se que a utilização de um “grid” mais denso para a integração dos funcionais de troca e correlação não altera a distribuição relativa dos possíveis confôrmeros de metilfosfocolina em fase gasosa, podendo, portanto, ser o conjunto de conformações reportado na Tabela 4 aquele que corresponde às conformações mais estáveis para este sistema em fase gasosa.

Por análise da mesma Figura (ou dos Anexos A, B e C), pode-se observar também que os parâmetros geométricos α_1 e α_2 são independentes de α_3 , α_4 e α_5 , pois nada variaram durante a otimização de geometria. Em fase gasosa, parecem existir somente dois pares de valores para estes ângulos: ($\alpha_1 = 286^\circ$; $\alpha_2 = 74^\circ$) e ($\alpha_1 = 312^\circ$; $\alpha_2 = 285^\circ$).

Conforme pode ser observado por inspeção dos Anexos A, B e C, os confôrmeros $1A_{60}$ e $2B_{300}$ são enantiômeros, bem como $1B_{60}$ e $2A_{300}$. De fato, aos pares, estas estruturas possuem os mesmos valores de energia (e conseqüentemente igual abundância relativa), propriedade característica de enantiômeros. A Figura 15 apresenta as conformações da Tabela 4 cujas populações de Boltzmann são superiores a 2%.

Em relação à localização destes confôrmeros em suas respectivas regiões de energia mínima identificadas no mapa conformacional da Figura 6, pode-se dizer que somente as conformações cujos ângulos diedro α_5 assumem valores próximos de 60° ($1A_{60}$, $1B_{60}$, $2A_{60}$, $2B_{60}$, $3A_{60}$ e $3B_{60}$) encontram-se nestas regiões. Através da análise da Tabela 3 e da Figura 13 (ou 14), nota-se que a variação do ângulo diedro α_5 influencia severamente os valores assumidos por α_3 e α_4 e, sendo assim, as regiões de mais baixa energia correspondentes ao referido mapa conformacional não podem ser estendidas às conformações cujos ângulos diedros α_5 valem 180° e 300° . No entanto, conforme reportado na Tabela 4, estas conformações não possuem ocorrência relevante, exceto $2A_{300}$ e $2B_{300}$, que são imagens espaciais de conformações cujos valores de α_5 são próximos de 60° ($1A_{60}$ e $1B_{60}$, respectivamente), conforme mostrado na Figura 15.

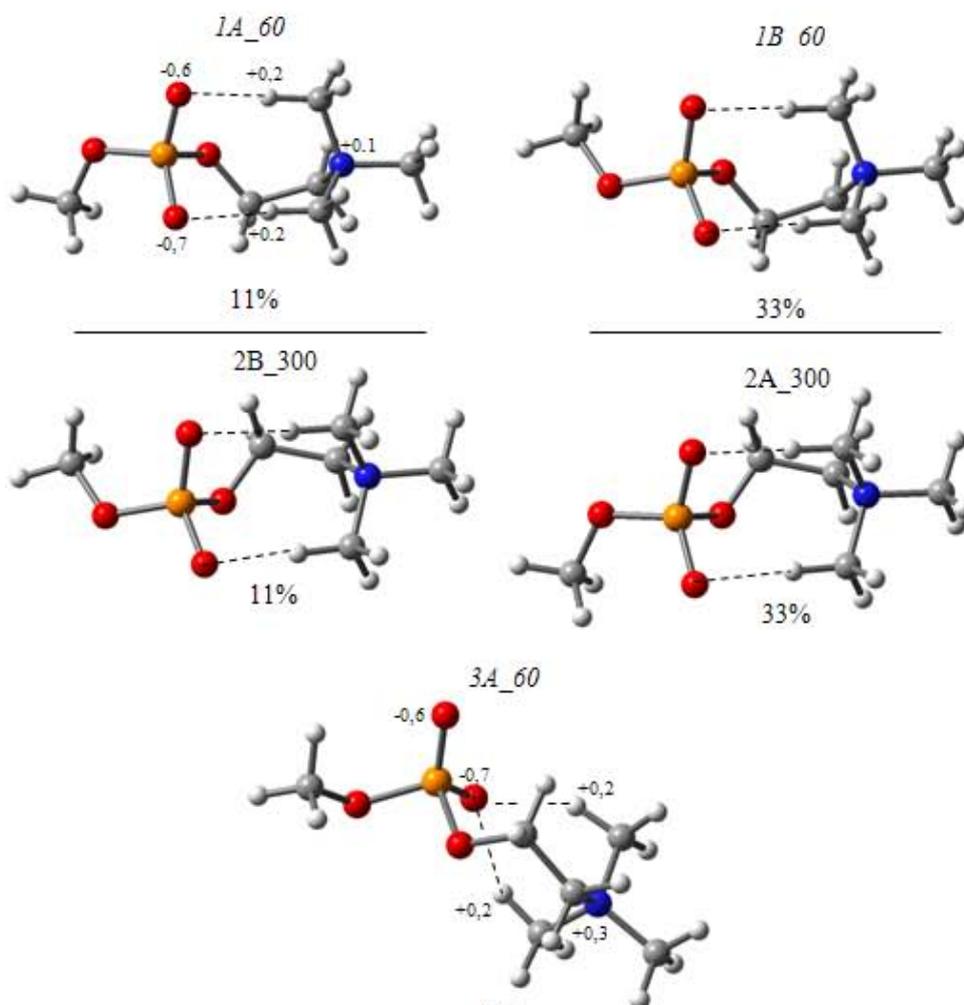


Figura 15. Valores de população de Boltzmann para os confôrmeros provenientes da análise conformacional para o parâmetro $\alpha 5$ (as conformações não representadas têm valores de população de Boltzmann $\leq 2\%$). O momento de dipolo calculado para as conformações *1A_60*, *1B_60*, *2A_300* e *2B_300* é 12 D, enquanto para a conformação *3A_60* o momento de dipolo é de 13 D. Todas as ligações hidrogênio representadas tem comprimento de 2.0 Å. As distâncias entre os átomos de N6 e P são 3,8 Å para todos os confôrmeros. As cargas sobre os átomos de H e O (derivadas do potencial eletrostático segundo o esquema de Merz-Kollman-Singh⁴²) envolvidos na formação de ligação hidrogênio intramolecular são dadas em unidades atômicas, bem como aquelas sobre o átomo de N6 e, quando não representadas, possuem os valores representados para o confôrmero *1A_60*. Os segmentos de reta representados têm como objetivo destacar o padrão de imagem especular observado para os confôrmeros em questão.

Assim, com base nestes resultados e naqueles apresentados na Figura 11 (que mostram as conformações cujos ângulos α_5 valem 60° como aquelas de menor energia), as conformações nas quais este ângulo se aproxima de 60° parecem ser aquelas mais estáveis em fase gasosa.

É interessante notar que, em fase gasosa, as conformações onde α_5 assume o valor de 180° não são estáveis, uma vez que este ângulo tende para um valor próximo de 120° , que parece favorecer a interação eletrostática entre os átomos de O3 e N6.

4.2 Solução aquosa

4.2.1 Aproximação 1

Partindo dos resultados obtidos em fase gasosa, todas as conformações da Tabela 4 (DZ) foram primeiramente solvatadas na geometria obtida no vácuo, e posteriormente otimizadas segundo o modelo contínuo de solvatação IEFPCM^{50,51}.

Uma vez que num solvente de alta constante dielétrica tal como a água, sistemas com forte separação de cargas como estes poderiam eventualmente se apresentar como estruturas estáveis, nesta etapa, todos os parâmetros geométricos dos referidos conformêros foram mantidos fixados, sendo também calculadas as energias em solução e as respectivas populações de Boltzmann para todas as conformações instáveis em fase gasosa, cujos ângulos diedros α_5 valem 180° , ou seja, as estruturas com $\alpha_5 = 180^\circ$ provenientes da curva de energia potencial para a variação de α_5 em fase gasosa (conformêros 1A_180, 1B_180, 2A_180, 2B_180, 3A_180 e 3B_180, Figura 11). Esta escolha se baseia na necessidade de controlar se conformações estendidas ($\alpha_5 = 180^\circ$) poderiam ser estabilizadas no solvente por interações eletrostáticas intermoleculares. A Tabela 6 apresenta os dados de energia provenientes dos cálculos de solvatação “single-point” em solução.

4.2.2 Aproximação 2

Numa etapa seguinte, cada um dos conformêros teve sua geometria totalmente otimizada em solução. A Figura 16 apresenta os parâmetros geométricos para o sistema em fase gasosa e em solução e na Tabela 7 estão os respectivos dados de energia e entropia para as conformações otimizadas em solução. O Anexo D apresenta os dados numéricos correspondentes aos valores otimizados em solução dos parâmetros geométricos α_1 , α_2 , α_3 , α_4 e α_5 .

Tabela 6. Solvatação “single-point” segundo o PCM dos confôrmeros pertencentes ao conjunto final de conformações estáveis em fase gasosa (Tabela 4, DZ). Os valores de energia e entropia relativa, bem como de população de Boltzmann estão em kcal/mol, cal/molK e porcentagem, respectivamente (B3LYP/6-31G(d,p)).

Confôrmero	$\Delta G_{T=0K}^{ele}$	$\Delta G^{\tilde{n}-ele}$	ΔS^0	ΔG_{corr}^0	$\Delta G_{T=298K}$	p_i
1A_60	-0,06	-0,08	-2,750	0,78	0,64	15
1A_180	4,14	-0,20	-1,441	0,46	4,40	0
1A_180 _{imp}	3,89	0,60	-3,619	-0,24	4,24	0
1A_300	1,82	0,10	-0,340	0,17	2,09	1
1B_60	0,18	-0,11	-2,719	0,82	0,90	9
1B_180	4,05	0,16	1,475	-0,46	3,75	0
1B_180 _{imp}	4,19	0,48	-9,895	1,09	5,77	0
1B_300	1,73	0,01	-1,062	0,63	2,36	1
2A_60	3,38	0,03	-1,411	0,61	4,02	0
2A_180 _{imp}	6,28	0,34	0,150	-0,59	6,03	0
2A_300	0,24	-0,11	-2,579	0,78	0,91	9
2B_60	2,64	-0,08	-2,246	0,95	3,51	0
2B_180 _{imp}	5,77	0,40	-0,420	-0,36	5,81	0
2B_300	-0,03	-0,08	-2,743	0,78	0,66	14
3A_60	0	0	0	0	0	43
3A_180 _{imp}	5,02	0,53	-2,495	-0,51	5,05	0
3B_60	0,72	0,15	-0,498	0,14	1,01	8
3B_180	4,30	-0,18	-1,359	0,48	4,60	0
3B_180 _{imp}	5,02	0,53	-3,224	-0,27	5,28	0

1. Nesta tabela, a notação *_180_{imp} refere-se às conformações obtidas através da curva de energia potencial para a variação de α_5 em fase gasosa, nas quais este ângulo vale 180° (imp: valor imposto).

2. $G_{T=0K}^{ele}$ é o termo eletrostático que compõe a energia do sistema em solução, à temperatura de 0 K. O valor de referência para $G_{T=0K}^{ele}$ é -935,367729 hartree.

3. $G^{\tilde{n}-ele}$ é o termo não-eletrostático que compõe a energia do sistema em solução e inclui as componentes de cavitação, repulsão e dispersão. O valor de referência para $G^{\tilde{n}-ele}$ é 3,08 kcal/mol.

4. G_{corr}^0 é o termo de correção térmica e entrópica da energia do sistema isolado, obtido através do programa Gaussian 2003⁵⁸. $\Delta G_{corr}^0 = \Delta G_{T=298K}^0 - \Delta U_{T=0K}^0$, sendo os termos $\Delta G_{T=298K}^0$ e $\Delta U_{T=0K}^0$ calculados para as geometrias otimizadas reportadas na Tabela 4, DZ.

5. S^0 é a entropia do sistema isolado, obtida através do programa Gaussian 2003⁵⁸. O valor de referência para S^0 é 118,257 cal/mol K.

6. $G_{T=298K}$ é a energia livre de Gibbs do sistema em solução ($\Delta G_{T=298K} = \Delta G_{T=0K}^{ele} + \Delta G^{\tilde{n}-ele} + \Delta G_{corr}^0$), à 298,15K. O valor de referência para $G_{T=298K}$ é -935,164126 hartree.

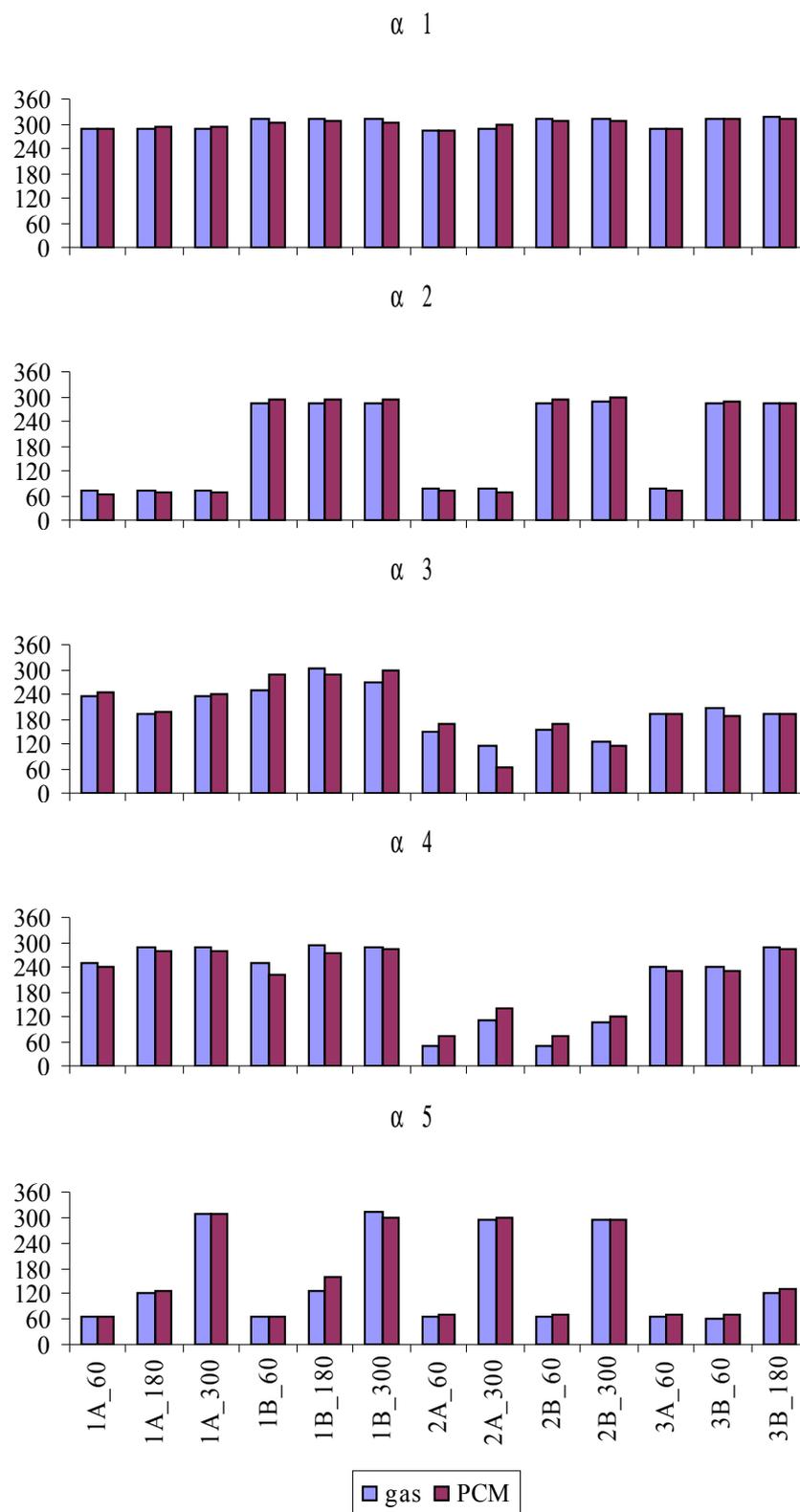


Figura 16. Parâmetros geométricos para o sistema em fase gasosa (gas) e com o modelo de solvatação PCM (PCM). Os valores de ângulos diedro estão em graus.

Com base na Figura 16, pode-se observar que a solvatação e posterior otimização de geometria em solução conduz somente a pequenas mudanças conformacionais, sendo os parâmetros geométricos α_3 e α_4 , os que sofrem variações mais pronunciadas.

Tabela 7. Valores de energia e entropia relativa para os confôrmeros otimizados em solução segundo o modelo IEFPCM, em kcal/mol e cal/molK, respectivamente (B3LYP/6-31G(d,p)).

Confôrmero	$\Delta G_{T=0K}^{ele}$	$\Delta G^{\bar{n}-ele}$	ΔS	ΔG_{corr}	$\Delta G_{T=298K}$	p_i
1A_60	0,36	0,08	-3,273	1,05	1,48	3
1A_180	4,68	-0,17	1,38	-0,44	4,07	0
1A_180 _{imp}	3,87	-0,10	4,574	-1,36	2,40	1
1A_300	1,36	-0,04	-2,286	0,78	2,10	1
1B_60	0	0	0	0	0	35
1B_180	2,89	-0,01	2,551	-0,62	2,26	1
1B_180 _{imp}	2,50	-0,13	-4,687	0,81	3,18	0
1B_300	0,67	-0,12	0,911	-0,22	0,33	20
2A_60	1,30	0,03	-7,215	4,46	5,79	0
2A_180 _{imp}	3,69	0,10	-4,093	0,60	4,40	0
2A_300	-0,03	-0,04	-0,550	0,21	0,15	27
2B_60	1,38	-0,11	-1,554	0,53	1,80	2
2B_180 _{imp}	3,83	-0,09	3,111	-0,95	2,79	0
2B_300	0,34	0,06	-2,979	0,92	1,32	4
3A_60	0,71	0,00	-1,899	0,61	1,31	4
3A_180 _{imp}	3,87	-0,07	1,794	-0,56	3,31	0
3B_60	0,55	0,06	-2,716	0,88	1,49	3
3B_180	4,90	-0,12	0,137	-0,05	4,73	0
3B_180 _{imp}	3,97	-0,06	-5,268	1,36	5,27	0

S é a entropia do sistema em solução. O valor de referência para S é 121,347 cal/mol K.

G_{corr} é o termo de correção térmica e entrópica da energia em solução. $\Delta G_{corr}^i = \Delta U_{tém}^i + \Delta ZPE^i - T\Delta S^i$, onde $U_{tém}^i$ é o termo de correção da energia para os movimentos vibracionais, rotacionais e translacionais da conformação i, à 298,15 K e ZPE^i sua energia de ponto zero. O valor de referência para G_{corr} é 0,196996 hartree.

Os valores de referência para $G_{T=0K}^{ele}$, $G^{\bar{n}-ele}$ e $G_{T=298K}$ são -935,373809 hartree, 3,86 kcal/mol e -935,1706617hartree.

Comparando as populações para os confôrmeros obtidos com as duas descrições, de efeito do solvente na energia e na geometria, percebe-se uma grande variação das abundâncias relativas, fato que sugere que a interação deste sistema com o solvente altera significativamente suas características, sendo a aproximação tipo “single-point” não adequada à sua descrição.

Em relação ao diedro α_5 , a solvatação deste sistema não confere abundância relativa relevante à conformações já não abundantes para o sistema isolado, como se pode observar por inspeção das Tabelas 4 e 7, uma vez que todas as conformações cujas populações de Boltzmann são não-relevantes para o sistema isolado permanecem como conformações não abundantes para o sistema em solução, salvo a conformação 3B_60. No entanto, conforme pode ser observado no Anexo 3, as conformações cujos ângulos diedros α_5 são próximos de 180° (intáveis para o sistema isolado, uma vez que este

ângulo tende para valores em torno de 120°) são termodinamicamente estáveis para o sistema solvatado, embora não apresentem abundância relativa relevante quando se considera o conjunto completo de confôrmeros estudados em solução.

Considerando as conformações (p_i 's ≥ 2) cuja solvatação mais afeta os valores assumidos por estes parâmetros geométricos (conformações '1' e '2'; 1A_60, 1B_60 e 1B_300 e 2A_300 e 2B_300, respectivamente), observa-se que enquanto os valores de α_3 tendem a ser maiores e os de α_4 menores em solução, para os confôrmeros '1', os valores de α_3 tendem a ser menores e os de α_4 maiores para os confôrmeros '2'. Quantitativamente, os valores de α_3 sofrem variação de 11° , em módulo, para ambos os confôrmeros 1A_60 e 2B_300 e de 46° para os confôrmeros 1B_60 e 2A_300. Considerando as variações de α_4 , se observa uma variação de 13° , em módulo, para ambos os confôrmeros 1A_60 e 2B_300, enquanto para os confôrmeros 1B_60 e 2A_300 esta variação é de 28° .

Sendo assim, o comportamento de imagem especular observado em fase gasosa para os confôrmeros 1A_60 e 2B_300 e 1B_60 e 2A_300 se mantém em solução, sendo estes quatro confôrmeros responsáveis por uma ocorrência de 70% em solução.

A Figura 17 apresenta as sete conformações mais abundantes em solução aquosa ($p_i > 2\%$) para metilfosfocolina (PCM) e suas respectivas conformações em fase gasosa (gas).

Com base na Figura 17, observa-se que o principal efeito proveniente da solvatação deste sistema é o de enfraquecer - ou até mesmo suprimir em alguns casos - as ligações hidrogênio intramoleculares, o que se dá através da variação dos ângulos diedros α_3 e α_4 e o conseqüente aumento das distâncias entre os átomos de H dos grupos metila ligados ao átomo de N e os átomos de O não esterificados do grupo fosfato. A análise conjunta da Figura 17 e da Tabela 7, nos faz concluir que as conformações nas quais somente uma ligação hidrogênio intramolecular está presente (ou nenhuma, como no caso do confôrmero 1B_300) são aquelas mais estáveis em solução. Este resultado pode ser entendido como proveniente de uma competição existente entre as interações intra e intermoleculares, estas últimas agora possíveis de serem estabelecidas entre soluto e solvente.

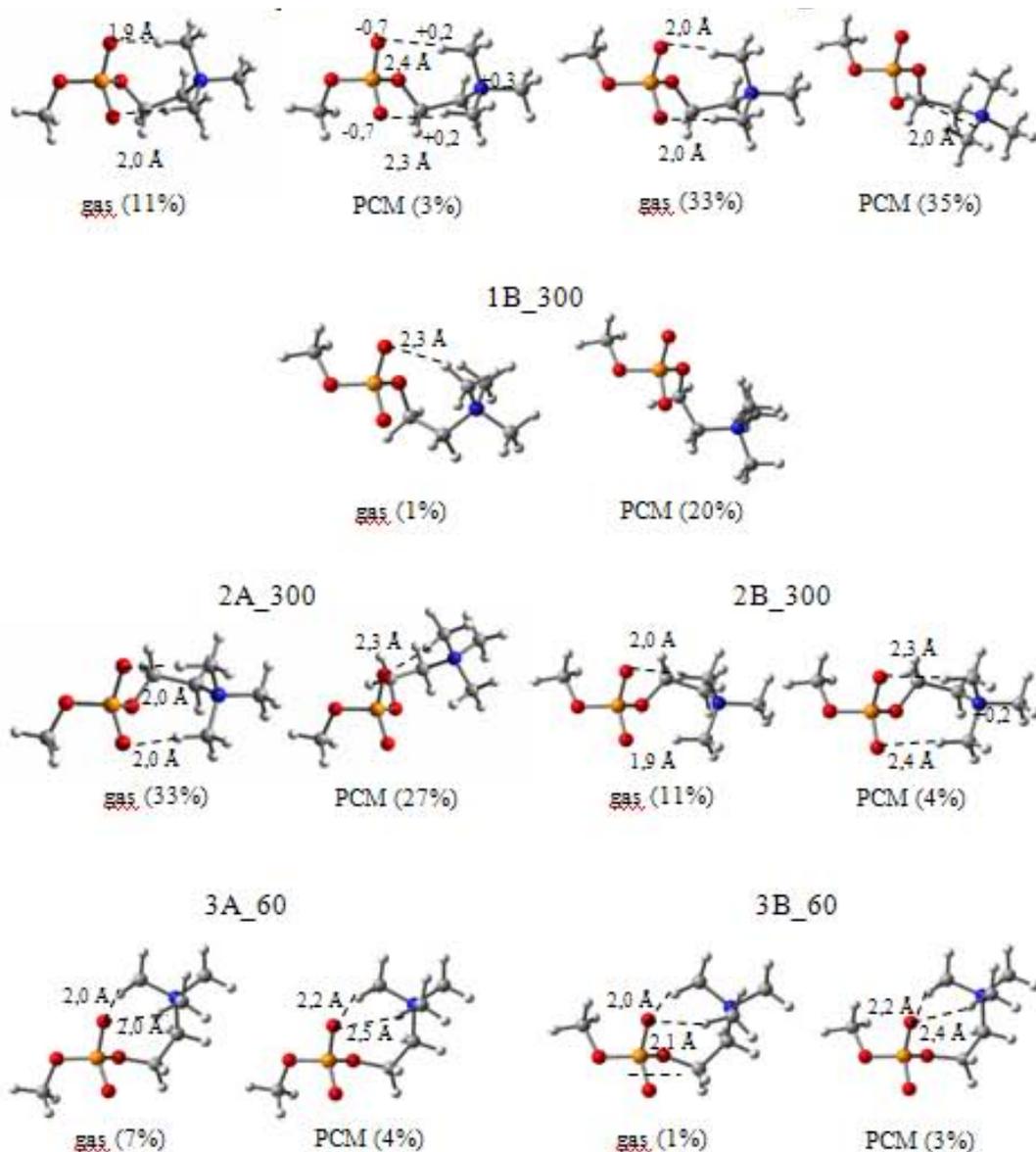


Figura 17. Conformações em solução cujas populações de Boltzmann são maiores que 2% e suas respectivas conformações em fase gasosa. Para os confôrmeros em solução, as cargas sobre os átomos de N, O e H são dadas em unidades atômicas (derivadas do potencial eletrostático segundo o esquema de Merz-Kollman-Singh⁴²) e valem, para todas as conformações em solução - exceto quando devidamente representadas - os mesmos valores daqueles representados para o confôrmero 1A_60. A distância N-P para os confôrmeros em solução tem um valor médio de 4.1 Å. O momento de dipolo calculado em solução é 19 D para os confôrmeros 1A_60, 2B_300 e 3A_60 e 20 D para os confôrmeros 1B_60, 1B_300, 2A_300 e 3B_60. Os valores entre parênteses representam as respectivas populações de Boltzmann calculadas à 298,15 K.

Conforme pode ser observado através da comparação entre as Tabelas 4 (DZ) e 7, para aqueles confôrmeros com populações de Boltzmann em solução entre 2 e 5% (1A_60, 2B_300 e 3A_60), o aumento da magnitude dos valores relativos de entropia em solução parece ser compensado por uma diminuição da magnitude dos valores relativos da energia eletrostática em solução. No entanto, estes efeitos parecem não garantir a abundância relativa de tais confôrmeros, uma vez que, para estes, a abundância é quase que exclusivamente definida pela componente entrópica da energia livre de Gibbs em solução. Para os demais confôrmeros, a abundância relativa em solução é definida pelo balanço entre os termos eletrostáticos e entrópicos da energia livre de Gibbs em solução, conforme apresentado na Figura 18.

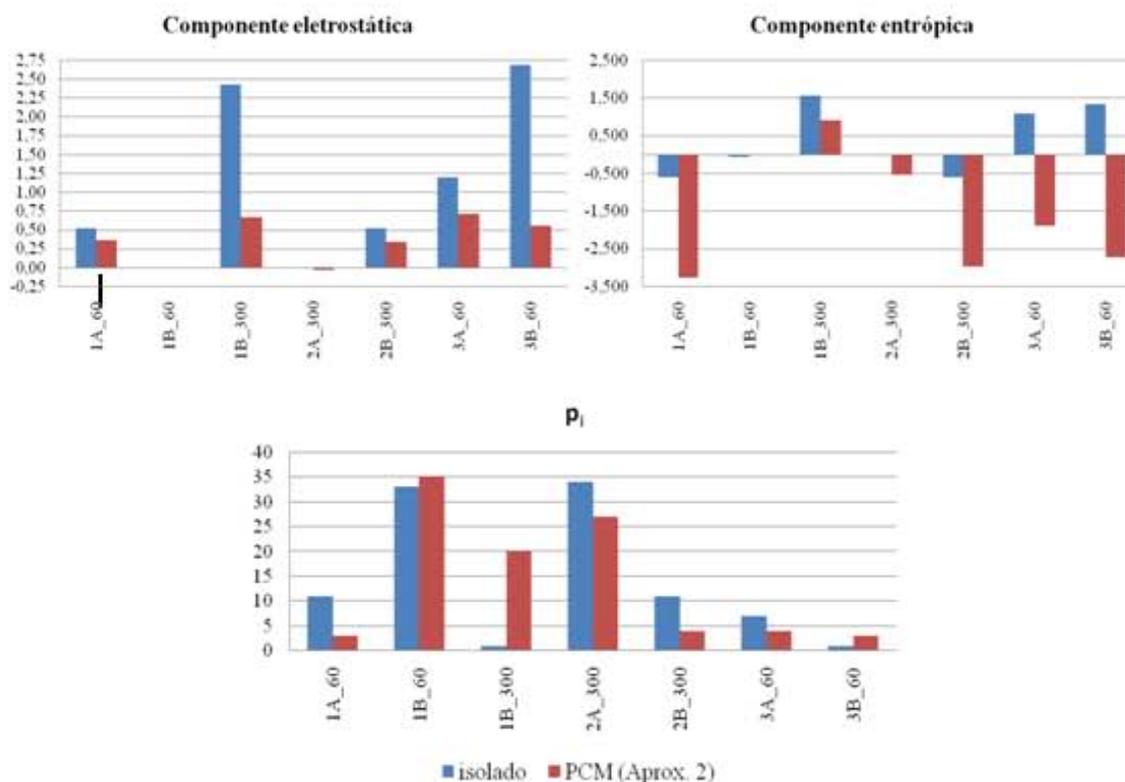


Figura 18. Comparação entre os valores de energia (Componente eletrostática) e entropia (Componente entrópica) relativa em fase gasosa (isolado) e com o modelo IEFPCM (PCM (Aprox. 2)) para os sete confôrmeros com populações de Boltzmann maiores que 2% em solução. Em fase gasosa, 'Componente eletrostática' é a energia interna relativa e, em solução, a componente eletrostática da energia livre em solução, ambas à 0 K e em kcal/mol. Os valores absolutos destas grandezas em fase gasosa e em solução são os mesmos reportados nas Tabelas 4 (DZ) e 7, respectivamente. Os valores relativos de 'Componente entrópica' estão em cal/mol K e os valores de p_i estão em porcentagem.

4.2.3 Aproximação 3

Com a introdução dos efeitos de solvatação como descrito no item 4.2.1, admitiu-se implicitamente que a solvatação de um sistema não torna estáveis conformações instáveis em fase gasosa, sendo somente capaz de alterar a distribuição relativa dos conformêros (estabilizados por efeitos intramoleculares).

Entretanto, como os valores de abundância relativa dos conformêros obtidos variaram muito da aproximação tipo “single-point” para aquela onde as geometrias foram reotimizadas considerando o efeito do solvente, recorreu-se a uma nova abordagem.

A fim de avaliar o quão verdadeira é a premissa anterior para um sistema tão particular como este, foi construído um mapa conformacional em solução em função de α_3 e α_4 (Figura 20), tomando como conformação de partida aquela mostrada abaixo (obtida através da otimização em solução da estrutura de partida para o respectivo mapa em fase gasosa), com o programa Jaguar 7.5⁵⁷.

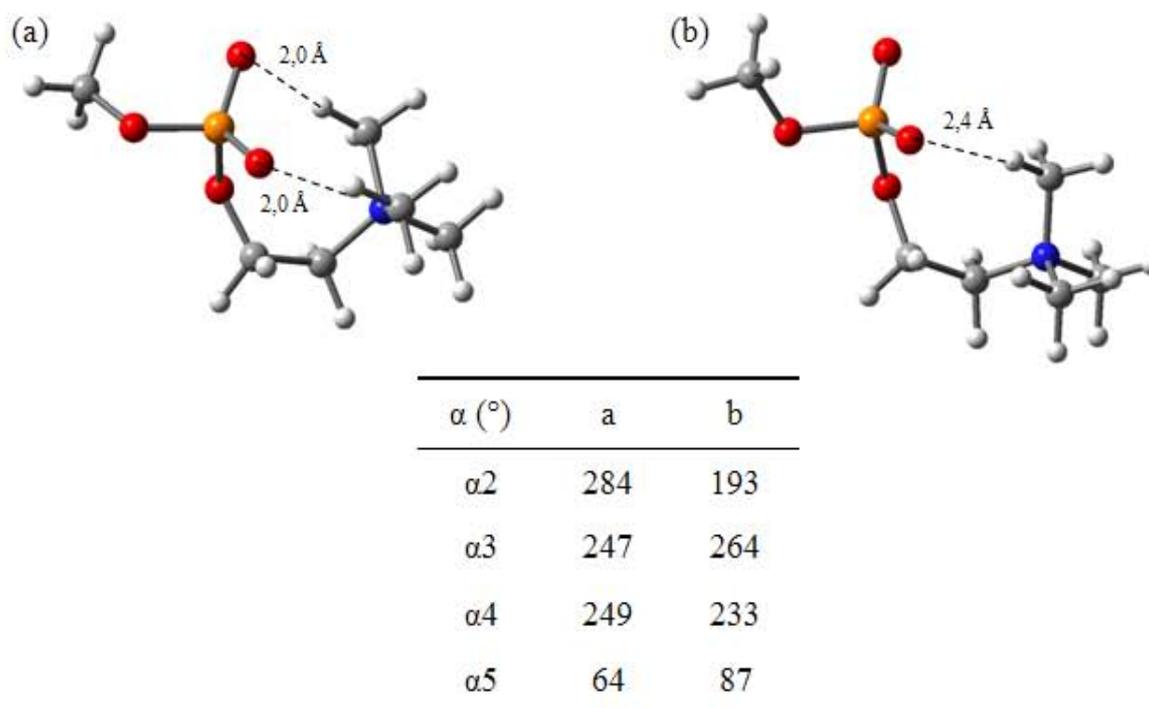


Figura 19. Estrutura de partida para o mapa em solução. (a) Estrutura de partida para o mapa em fase gasosa. (b) Estrutura de partida do mapa em solução, obtida através da solvatação e otimização de geometria de (a), com o programa Jaguar 7.5.

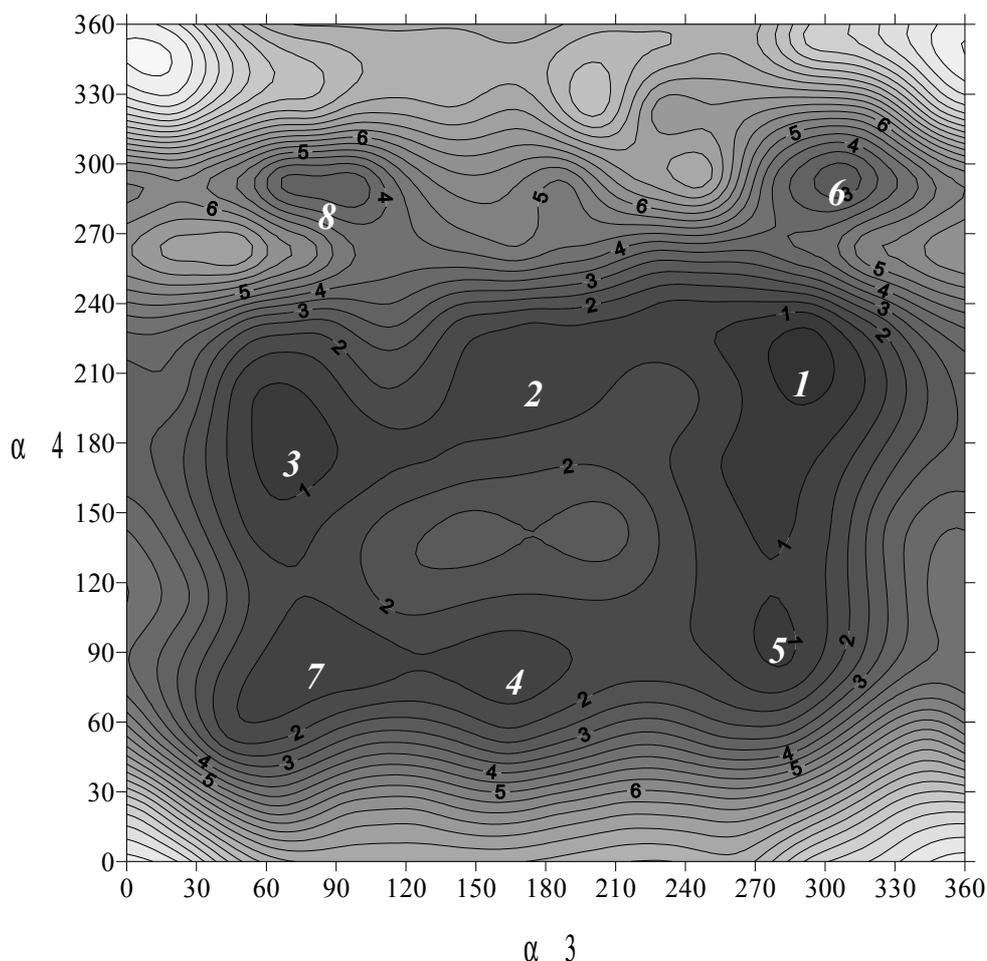


Figura 20. Mapa conformacional relaxado em solução para a variação sistemática dos ângulos diedros α_3 e α_4 , em graus, B3LYP/6-31G(d,p), com 144 pontos interpolados. Os valores de energia relativa estão em kcal/mol e são dados para a energia livre de Gibbs em solução ($\Delta G_{\text{sol}}^{T=0\text{K}}$), composta pelos termos eletrostático e de cavitação, segundo o modelo de solvatação implementado no programa Jaguar 7.5.

Comparando os mapas conformacionais das Figuras 6 e 20, observa-se que o número de regiões com energia mínima é maior para o mapa obtido em solução (8 regiões) do que para aquele obtido em fase gasosa (4). Além disto, as posições destes conjuntos de regiões de energia mínima também são bastante diferentes entre si. Esta é uma característica rara, e sugere que talvez possam haver conformações estáveis passíveis de obtenção somente a partir de mapas conformacionais relaxados que considerem o efeito do solvente.

Entretanto, para verificar esta suposição é necessário que estas regiões de energia mínima abriguem conformações estáveis à temperatura de 298,15 K, fato que será verificado nos próximos parágrafos. Na Tabela 8 estão listados os valores dos parâmetros geométricos otimizados para cada um dos confôrmeros correspondentes às regiões de energia mínima do mapa conformacional da Figura 20. Para a construção das estruturas de partida representantes das regiões de energia mínima do mapa da Figura

20, os valores de α_3 e α_4 da estrutura representada na Figura 19 (a) foram devidamente modificados, em correspondência aos dados entre parênteses listados na Tabela 8.

Tabela 8. Parâmetros geométricos α_3 e α_4 otimizados em solução segundo o modelo de solvatação IEFPCM para cada um dos confôrmeros correspondentes às oito regiões de energia mínima identificadas no mapa conformacional da Figura 20. Os valores entre parênteses representam os valores de partida para estes parâmetros e os respectivos ângulos diedros estão em graus.

Confôrmero	α_3	α_4
1	296 (290)	220 (215)
2	188 (170)	231 (205)
3	95 (70)	127 (180)
4	168 (160)	71 (80)
5	279 (280)	110 (100)
6	300 (305)	225 (290)
7	121 (70)	83 (80)
8	162 (90)	167 (290)

A Tabela 9 reporta os valores de energia e entropia relativa e população de Boltzmann para os confôrmeros cujos parâmetros geométricos foram totalmente otimizados em solução.

Tabela 9. Valores de energia e entropia relativa (em kcal/mol e cal/molK, respectivamente) e população de Boltzmann (em porcentagem) para os confôrmeros reportados na Tabela 8.

Confôrmero	$\Delta G_{T=0K}^{ele}$	$\Delta G^{\bar{n}-ele}$	ΔS	ΔG_{corr}	$\Delta G_{T=298K}$	p_i
1	0	0	0	0	0	86
2	0,58	0,09	-3,972	1,22	1,90	4
3	2,78	-0,01	-8,440	1,19	3,97	0
4	1,31	-0,08	-2,408	0,72	1,96	3
5	2,65	0,41	4,700	-1,47	1,59	6
7	1,39	0,00	-3,263	1,03	2,42	1
8	2,98	0,27	-3,935	0,50	3,75	0

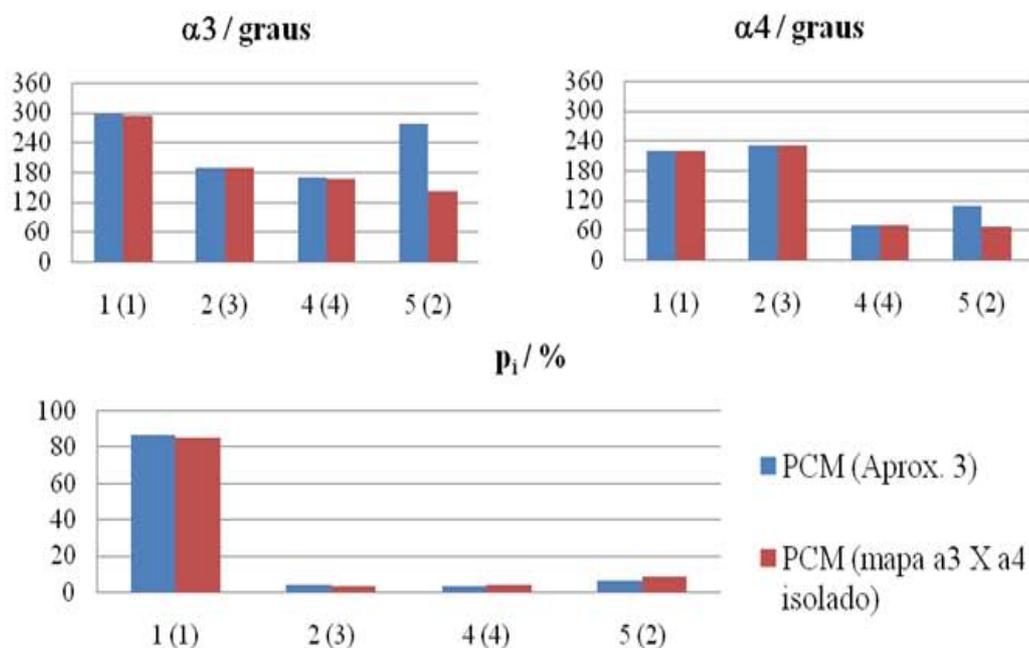
Os confôrmeros **1** e **6** convergiram para uma única conformação, denominada confôrmero **1**.

Os valores de referência para $G_{T=0K}^{ele}$, $G^{\bar{n}-ele}$, S , G_{corr} e $G_{T=298K}$ são -935,373865 hartree, 3,82 kcal/mol, 122,181 cal/mol K, 0,196664 hartree e -935,171113 hartree, respectivamente.

A Figura 21 apresenta uma comparação entre os valores de α_3 e α_4 obtidos através da solvatação e otimização completa de geometria das conformações correspondentes às regiões de energia mínima do mapa em fase gasosa (Figura 6) e aqueles obtidos através da otimização de geometria dos confôrmeros correspondentes às respectivas regiões do mapa obtido em solução (Tabela 8), bem como suas respectivas populações de Boltzmann.

Esta comparação é interessante para verificar se o último conjunto de confôrmeros obtidos como estáveis pode ser recuperado a partir do estudo conformacional em fase gasosa.

Figura 21. Comparação entre os parêmtros geométricos α_3 e α_4 dos confôrmeros, cujas populações de Boltzmann são superiores a 2%,



provenientes do mapa conformacional completamente obtido em solução (PCM (Aprox. 3)) e da solvatação e otimização de geometria em solução para os confôrmeros provenientes do mapa conformacional em fase gasosa (PCM (mapa a3 x a4 isolado)) e suas respectivas populações de Boltzmann (p_i), em porcentagem. A notação X(Y) refere-se às conformações obtidas do mapa em solução (X) e àquelas provenientes da solvatação e otimização de geometria de cada uma das conformações correspondentes às regiões de mais baixa energia do mapa conformacional para o sistema isolado (Y).

Comparando-se as conformações obtidas do mapa em solução e aquelas solvatadas e otimizadas, provenientes do mapa em fase gasosa, observa-se que há diferença entre ambos os conjuntos de conformações, uma vez que o confôrmero 5 obtido através da Aproximação 3 não pode ser recuperado a partir do estudo em fase gasosa. Isto é uma característica física deste sistema ou os resultados do mapa conformacional obtidos com o modelo de solvatação presente no programa Jaguar 7.5 não são confiáveis?

A Tabela 10 reporta os valores de energia e entropia relativa para os confôrmeros em solução provenientes do mapa conformacional obtido em fase gasosa.

Tabela 10. Valores de energia (kcal/mol) e entropia (cal/molK) relativa para os confôrmeros solvatados e completamente otimizados em solução provenientes do mapa conformacional em fase gasosa (Figura 6).

Confôrmero	$\Delta G_{T=0K}^{ele}$	$\Delta G^{\bar{n}-ele}$	ΔS	ΔG_{corr}	$\Delta G_{T=298K}$
1	0	0	0	0	0
2	1,61	-0,08	-7,213	1,48	3,01
3	0,57	0,08	-3,093	0,98	1,63
4	1,37	-0,10	-1,796	0,57	1,83

Os valores de referência para $G_{T=0K}^{ele}$, $G^{\bar{n}-ele}$, S , G_{corr} e $G_{T=298K}$ são -935,373843 hartree, 3,83 kcal/mol, 121,369 cal/mol K, 0,197035 hartree e -935,1707045 hartree, respectivamente.

Considerando para cada uma das conformações, cujas populações de Boltzmann são superiores a 2%, provenientes do mapa conformacional em solução a variação do ângulo diedro α_2 , foram construídas curvas de energia potencial para a variação sistemática deste parâmetro geométrico, que são reportadas na Figura 22. Nestas curvas, foram mantidos fixados os respectivos valores otimizados dos ângulos diedros α_3 e α_4 para cada uma das conformações 1, 2, 4 e 5 (Tabela 8). O mesmo procedimento não foi estendido para α_1 em virtude de sua invariância, como demonstrado pela Figura 16.

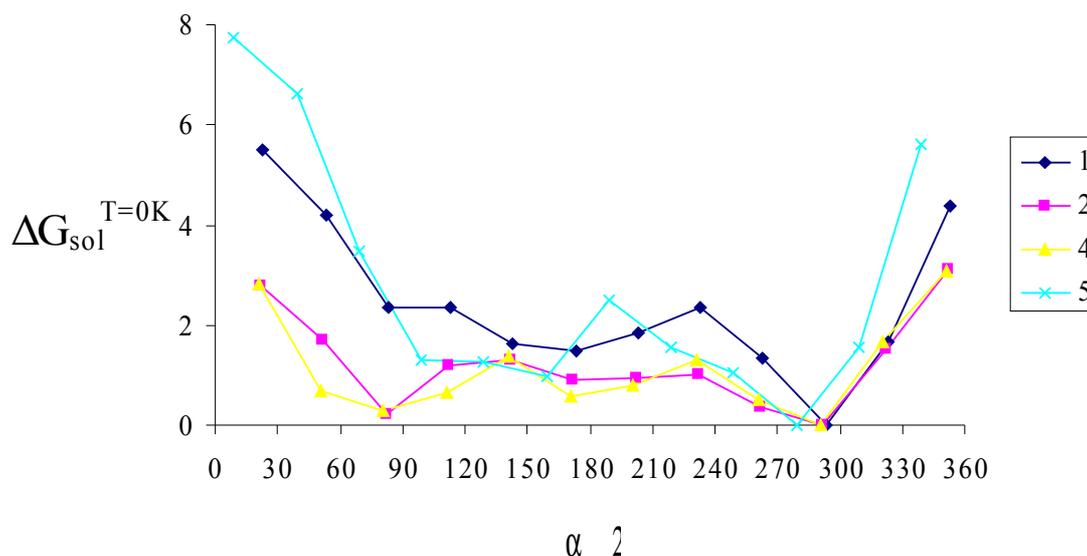


Figura 22. Curvas de energia potencial relaxadas para a variação sistemática do parâmetro geométrico α_2 , em 12 passos de 30°. Os ângulos diedro estão em graus e $\Delta G_{sol}^{T=0K}$, os valores relativos de energia livre de Gibbs em solução⁵⁷, em kcal/mol.

Por inspeção da Figura 22, observa-se a presença de três valores de α_2 que conferem energia mínima ao sistema: $\alpha_2 \approx 90^\circ$, 180° e 270° , independentemente dos valores assumidos por α_3 e α_4 . Esta observação é semelhante ao que se obtém para este sistema isolado (em fase gasosa). No entanto, para o sistema em fase gasosa obtêm-se somente dois destes valores: $\alpha_2 \approx 90^\circ$ e 270° e, sendo assim, com base nesta informação e naquela apresentada na Tabela 3, os parâmetros geométricos que mais se alteram em

virtude da solvatação parecem, de fato, ser aqueles definidos pelos ângulos diedros α_3 e α_4 .

Considerando os valores de partida mencionados acima para o referido parâmetro geométrico, foram construídas as doze conformações correspondentes a cada um destes pontos de energia mínima, que foram totalmente otimizadas em solução segundo o modelo de solvatação IEFPCM (Gaussian 2003⁴¹). Para a construção das conformações de partida correspondentes aos pontos de energia mínima da Figura 22, foram ajustados os respectivos valores de α_2 , em correspondência àqueles anteriormente descritos (90° , 180° e 290°), em cada uma das conformações otimizadas provenientes do mapa em solução. A Figura 23 apresenta os valores otimizados para os parâmetros geométricos α_2 , α_3 e α_4 obtidos para cada uma das doze conformações supracitadas.

Por inspeção da Figura 23, de forma análoga ao que se observa em fase gasosa, parece haver uma hierarquia entre os parâmetros geométricos que conferem variação conformacional à MePC que, em ordem crescente, pode ser expressa como: α_2 , α_3 e α_4 , uma vez que os valores para os parâmetros geométricos α_3 e α_4 não se alteram em virtude da variação de α_2 . Uma outra interpretação é possível para estes resultados: para a MePC, quer em seu estado isolado quer em solução, uma dada região de energia mínima definida pelos pares de valores de α_3 e α_4 que conferem energia mínima a este sistema, abriga diferentes conformações estáveis, diferindo entre si, basicamente, pelos valores assumidos por seus ângulos diedros α_2 .

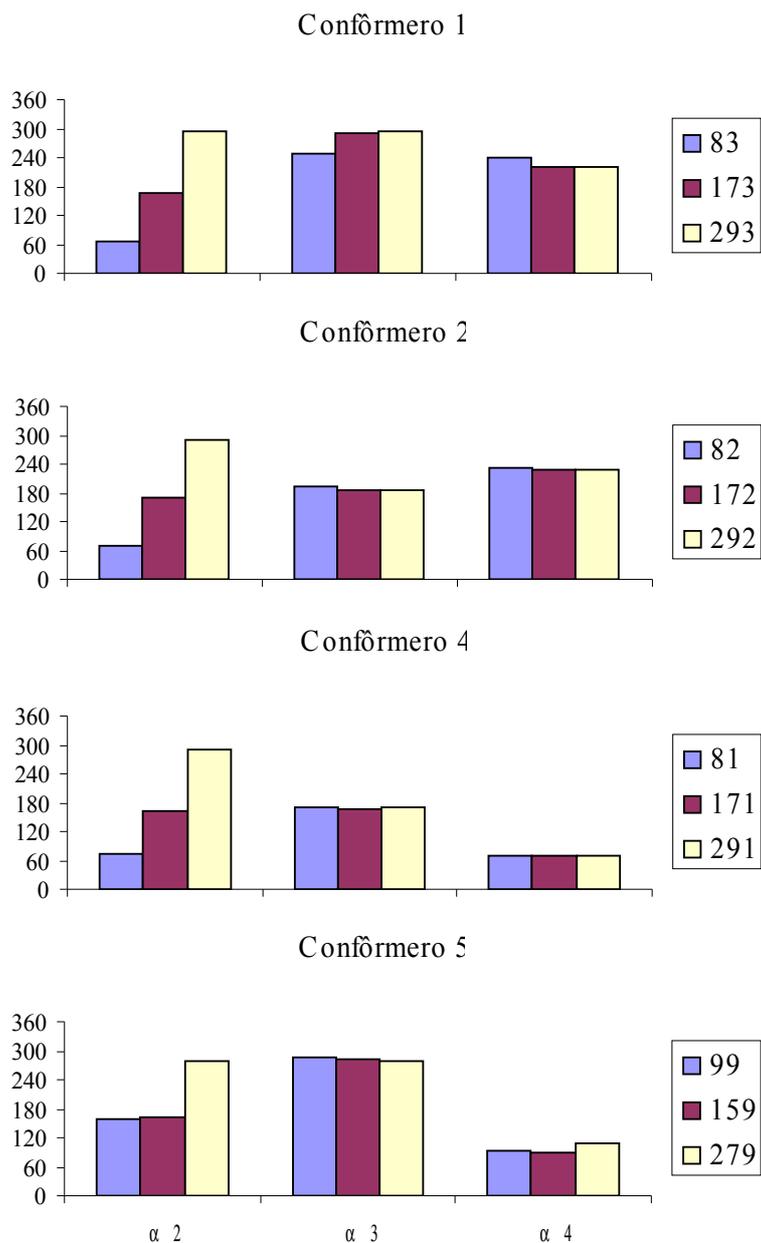


Figura 23. Valores otimizados em solução, segundo o modelo de solvatação IEFPCM, dos parâmetros geométricos $\alpha 2$, $\alpha 3$ e $\alpha 4$ (em graus) para cada uma das doze conformações provenientes da curva de energia potencial que avalia a variação sistemática de $\alpha 2$ (Figura 22). As notações apresentadas nas legendas referem-se aos valores de partida para $\alpha 2$ em cada uma das otimizações de geometria.

A Tabela 11 reporta os valores de energia relativa e de população de Boltzmann para cada uma das doze conformações provenientes da Figura 22 completamente otimizadas segundo o modelo IEFPCM.

Tabela 11. Valores de energia e entropia relativa (em kcal/mol e cal/molK) e de população de Boltzmann (em porcentagem) para os confôrmeros provenientes das curvas de energia potencial apresentadas na Figura 22.

Confôrmero	$\Delta G_{T=0K}^{ele}$	$\Delta G_{T=0K}^{\bar{n}-ele}$	ΔS	ΔG_{corr}	$\Delta G_{T=298K}$	p_i
1_83	0,38	0,13	-3,866	1,15	1,66	6
1_173	1,18	0,08	-1,313	0,43	1,69	5
1_293 ¹	0	0	0	0	0	89
2_82 ²	0	0	0	0	0	56
2_172	1,43	-0,06	1,644	-0,52	0,85	13
2_292	-0,20	0,08	-1,401	0,46	0,34	31
4_81 ³	0	0	0	0	0	53
4_171	1,39	-0,15	0,640	-0,22	1,01	10
4_291	-0,15	-0,13	-1,556	0,51	0,22	37
5_159 ⁴	0	0	0	0	0	57
5_279	0,40	0,04	0,762	-0,27	0,18	43

Os confôrmeros 5_99 e 5_159 convergiram para uma única conformação, denominada confôrmero 5_159.

1. Os valores de referência para $G_{T=0K}^{ele}$, $G_{T=0K}^{\bar{n}-ele}$, S , G_{corr} e $G_{T=298K}$ são -935,373859 hartree, 3,82 kcal/mol, 122,141 cal/mol K, 0,196683 hartree e -935,1710884 hartree, respectivamente.

2. Os valores de referência para $G_{T=0K}^{ele}$, $G_{T=0K}^{\bar{n}-ele}$, S , G_{corr} e $G_{T=298K}$ são -935,372647 hartree, 3,82 kcal/mol, 119,601 cal/mol K, 0,197887 hartree e -935,168672 hartree, respectivamente.

3. Os valores de referência para $G_{T=0K}^{ele}$, $G_{T=0K}^{\bar{n}-ele}$, S , G_{corr} e $G_{T=298K}$ são -935,371541 hartree, 3,88 kcal/mol, 120,987 cal/mol K, 0,197176 hartree e -935,168182 hartree, respectivamente.

4. Os valores de referência para $G_{T=0K}^{ele}$, $G_{T=0K}^{\bar{n}-ele}$, S , G_{corr} e $G_{T=298K}$ são -935,370255 hartree, 4,19 kcal/mol, 116,385 cal/mol K, 0,198414 hartree e -935,1651638 hartree, respectivamente.

A Tabela 12 reporta os valores de população de Boltzmann quando se considera todos os confôrmeros apresentados na Tabela 11 como sendo integrantes de um mesmo conjunto de conformações.

Conforme se observa na Tabela 12, seis conformações cujas populações de Boltzmann são superiores a 2% são obtidas quando se procede segundo a Aproximação 3, que considera a análise conformacional da MePC em solução, através da construção de um mapa conformacional e curvas de energia potencial completamente obtidas em solução⁴⁰.

Tabela 12. Valores de população de Boltzmann para o conjunto de confôrmeros composto por todas as conformações listadas na Tabela 11. Os valores de energia relativa estão em kcal/mol e aqueles de população de Boltzmann em porcentagem.

Confôrmero	$\Delta G_{T=298K}$	p_i
1_83	1,66	5
1_173	1,69	4
1_293	0	74
2_82	1,52	6
2_172	2,36	1
2_292	1,85	3
4_81	1,82	4
4_171	2,84	1
4_291	2,05	2
5_159	3,72	0
5_279	3,90	0

A notação *_* é idêntica àquela apresentada na Figura 23.

O valor de referência para $G_{T=298K}$ é -935,1710884 hartree.

Comparando as Aproximações 2 e 3, pode-se observar que todos os confôrmeros com abundância $p_i > 2\%$, segundo o modelo de solvatação IEFPCM e a Aproximação 2 (cujos ângulos diedros α_5 valem 60° , ou seja, $1A_60$, $1B_60$, $3A_60$ e $3B_60$, responsáveis por uma abundância relativa de 45%) também fazem parte do conjunto de conformações obtido segundo a Aproximação 3. Esta observação pode ser feita quando se comparam as Figuras 16 e 23 (ou os Anexos D e E), que apresentam os valores otimizados para os principais parâmetros geométricos que conferem variação conformacional à MePC - os ângulos diedros α_2 , α_3 e α_4 - obtidos com as Aproximações 2 e 3, respectivamente. Através desta comparação, pode-se concluir que as conformações supracitadas são absolutamente equivalentes aquelas 1_83, 1_293, 2_82 e 2_292 (responsáveis por uma abundância relativa de 87%).

No entanto, como mencionado, quando são comparados os valores de população de Boltzmann obtidos para ambos os conjuntos de conformações estáveis segundo as referidas aproximações (Tabelas 7 e 12), observa-se que, segundo a Aproximação 3, o confôrmero 1_293 (equivalente à $1B_60$ na Aproximação 2) apresenta valor de população que é o dobro daquele obtido segundo a Aproximação 2. Neste ponto, cabe lembrar que os valores de p_i mencionados correspondem a um conjunto de conformações cujos ângulos diedro α_5 valem 60° (Aproximação 3) e a outro cujos referidos diedros valem 60° e 300° . Portanto, este fato pode ser explicado com base nas informações obtidas para este sistema quando da sua análise conformacional em fase gasosa, ou seja, quando o parâmetro geométrico α_5 foi investigado através da construção de curvas de energia potencial que consideram a variação sistemática deste ângulo diedro, gerando conformações estáveis que são imagens especulares daquelas cujos referidos ângulos valem 60° .

Assim, para investigar esta possibilidade foram impostos aos ângulos diedros α_5 de todas as conformações listadas na Tabela 12 o valor de 300° , e as respectivas conformações assim geradas foram totalmente otimizadas em solução, segundo o modelo de solvatação IEFPCM. A Figura 24 mostra os valores de ângulos diedros otimizados e a Tabela 13 os valores de energia relativa para este conjunto confôrmeros.

Avaliação de $\alpha 5$ - Aproximação 3

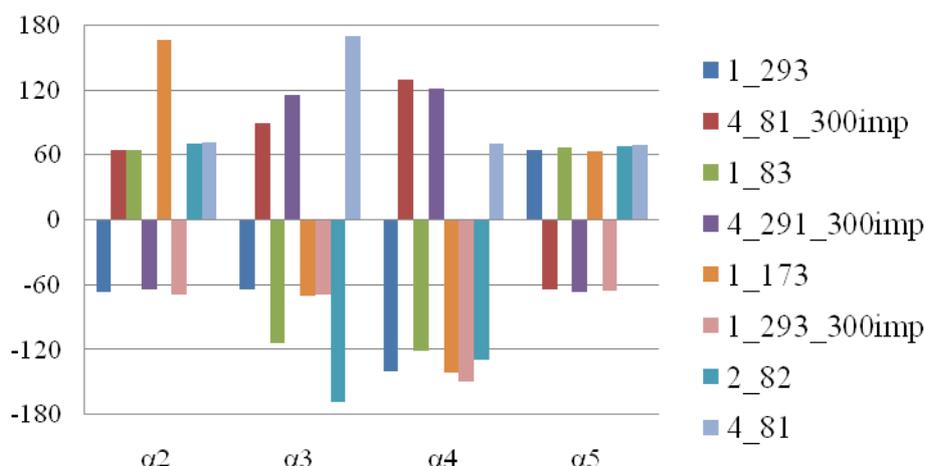


Figura 24. Valores de ângulos diedro (em graus) para as conformações em solução ($p_i > 2\%$) provenientes da avaliação de $\alpha 5$, através da imposição de 300° ($*_{300imp}$) a este ângulo em cada uma das conformações da Tabela 12. Com o objetivo de facilitar a observação do padrão de imagem especular obtido para algumas destas conformações, a escala de representação para os valores de ângulos diedro foi mudada de $0^\circ-360^\circ$ para $-180^\circ-180^\circ$.

Conforme constatado pela análise da Figura 24, não se observa o padrão de imagem especular perfeito para os ângulos $\alpha 2$, $\alpha 3$ e $\alpha 4$, embora se possa observar um comportamento análogo (porém imperfeito) de imagem especular quando se comparam os parâmetros geométricos das conformações 1_83 e 4_291_300imp, bem como 1_293 e 4_81_300imp (o Anexo E apresenta os dados numéricos dos parâmetros geométricos otimizados em solução para todas as conformações provenientes desta avaliação).

Considerando as conformações 1_293_300imp e 4_81, observa-se um padrão conformacional análogo àquele observado para as conformações 1B_300 e 2A_60, respectivamente, obtidas segundo a Aproximação 2, o que pode ser facilmente verificado por inspeção conjunta dos Anexos D e E.

Tabela 13. Valores de energia e entropia relativa (kcal/mol e cal/molK) e população de Boltzmann (porcentagem) para os confôrmeros provenientes da avaliação de $\alpha 5$ em cada uma das conformações da Tabela 12.

Confôrmero	$\Delta G_{T=0K}^{ele}$	$\Delta G^{\tilde{n}-ele}$	ΔS	ΔG_{corr}	$\Delta G_{T=298K}$	p_i
1_83	0,38	0,13	-3,866	1,15	1,66	3
1_83_300 _{imp}	1,44	0,01	-3,208	1,03	2,47	1
1_173	1,18	0,08	-1,313	0,43	1,69	3
1_173_300 _{imp}	1,36	0,56	-0,556	0,15	2,07	2
1_293	0	0	0	0	0	55
1_293_300 _{imp}	1,90	0,18	3,318	-1,09	1,00	10
2_82	0,76	0	-2,540	0,76	1,52	4
2_82_300 _{imp}	1,40	-0,08	-2,255	0,69	2,01	2
2_172	2,19	-0,06	-0,896	0,23	2,36	1
2_172_300 _{imp}	3,79	-0,09	-4,637	0,70	4,40	0
2_292	0,56	0,08	-3,941	1,21	1,85	2
2_292_300 _{imp}	2,18	0,22	-4,487	0,65	3,06	0
4_81	1,45	0,06	-1,154	0,31	1,82	3
4_81_300 _{imp}	0,35	0,14	-3,715	1,18	1,67	3
4_171	2,84	-0,09	-0,514	0,09	2,84	0
4_171_300 _{imp}	1,49	0,15	-2,422	0,72	2,36	1
4_291	1,30	-0,07	-2,710	0,82	2,05	2
4_291_300 _{imp}	0,38	0,1	-3,877	1,14	1,62	4
5_159	2,26	0,37	-5,756	1,09	3,72	0
5_159_300 _{imp}	1,80	0,3	-3,061	0,89	2,98	0
5_279	2,67	0,41	-4,994	0,82	3,90	0
5_279_300 _{imp}	0,74	0,36	-3,110	0,91	2,01	2

Os valores de referência para $G_{T=0K}^{ele}$, $G^{\tilde{n}-ele}$, S , G_{corr} e $G_{T=298K}$ são -935,373859 hartree, 3,82 kcal/mol, 122,141 cal/mol K, 0,196683 hartree e -935,171088 hartree, respectivamente.

Com base na Tabela 13 e na Figura 24, podemos observar que as conformações que guardam entre si uma correspondência tipo imagem especular (1_83 e 4_291_300_{imp} e 1_293 e 4_81_300_{imp}) correspondem a uma população de 65% em solução, segundo esta aproximação. É interessante notar que na Aproximação 2 as conformações 1A_60 e 2B_300 e 1B_60 e 2A_300 (análogas a estas últimas) correspondem a uma população de 69%.

Pode-se observar também que a conformação 4_81 apresenta $p_i = 3\%$, enquanto 2A_60 apresenta p_i nula. As conformações 1_293_300_{imp} e 1B_300 correspondem a populações de 51% e 20% em solução, respectivamente.

Sendo assim, considerando o conjunto de conformações ($p_i > 2\%$) obtido segundo a Aproximação 3: 1_83, 1_293, 1_293_300_{imp}, 2_82, 4_81, 4_81_300_{imp}, 4_291_300_{imp} e 1_173, pode-se observar que este último é análogo àquele obtido segundo a Aproximação 2, composto pelos seguintes confôrmeros: 1A_60, 1B_60, 1B_300, 3A_60, 2A_60 ($p_i = 0\%$), 2A_300 e 2B_300, não havendo conformação análoga para a conformação 1_173 obtida segundo a Aproximação 3. Considerando ambos os conjuntos de confôrmeros supracitados, obtém-se populações de Boltzmann correspondentes a 85% e 93%, respectivamente.

Uma última comparação entre as 3 aproximações para a introdução dos efeitos de solvatação é aquela que considera os valores de população encontrados para cada

confôrmero, bem como para o sistema isolado, como podemos observar na Figura 25.

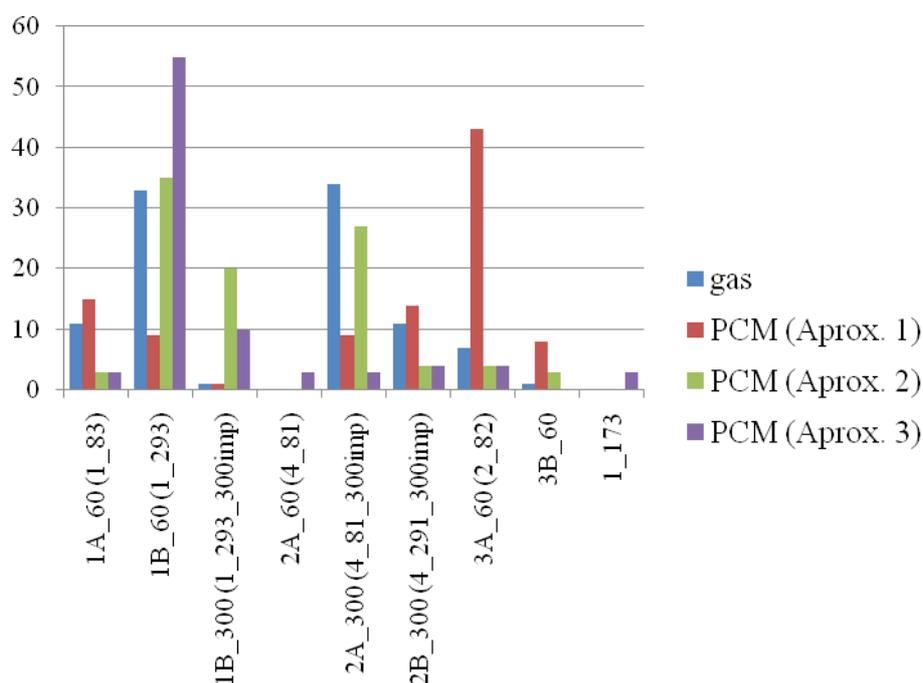


Figura 25. Valores de população de Boltzmann (%) encontrados para os confôrmeros mais estáveis obtidos para a MePC na descrição de sistema isolado (gas) e solvatado (PCM).

Conforme podemos observar a partir da Figura 25, as abundâncias conformacionais relativas variam muito em decorrência da fase onde o sistema se encontra bem como da aproximação utilizada para descrever o sistema solvatado. Na Aproximação 2, onde acontece solvatação acompanhada de otimização de geometria das conformações mais estáveis em fase gasosa, são obtidas conformações que são ‘imagens especulares perfeitas’ umas das outras para valores de α_3 e α_4 , porém isto não acontece na Aproximação 3.

4.3 Comparação com outros trabalhos e dados experimentais

Considerando os dados experimentais disponíveis na literatura, algumas comparações com os dados obtidos no presente trabalho seriam possíveis.

A seguir, exibem-se quatro gráficos, onde são comparados os valores dos ângulos diedros α_2 , α_3 , α_4 e α_5 dos confôrmeros obtidos como mais abundantes em fase gasosa e com o modelo PCM e as grandezas equivalentes obtidas para 1,2-dimiristoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina dihidrato (DMPC), 1-palmitoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina-monohidrato (PPC), 1-hexadecil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (HPC) e *sn*-glicero-3-fosfocolina (GPC) e 1,2-dipalmitoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (DPPC) nas fases cristalina^{25(d)} e líquido-cristalina^{25(b)}, respectivamente.

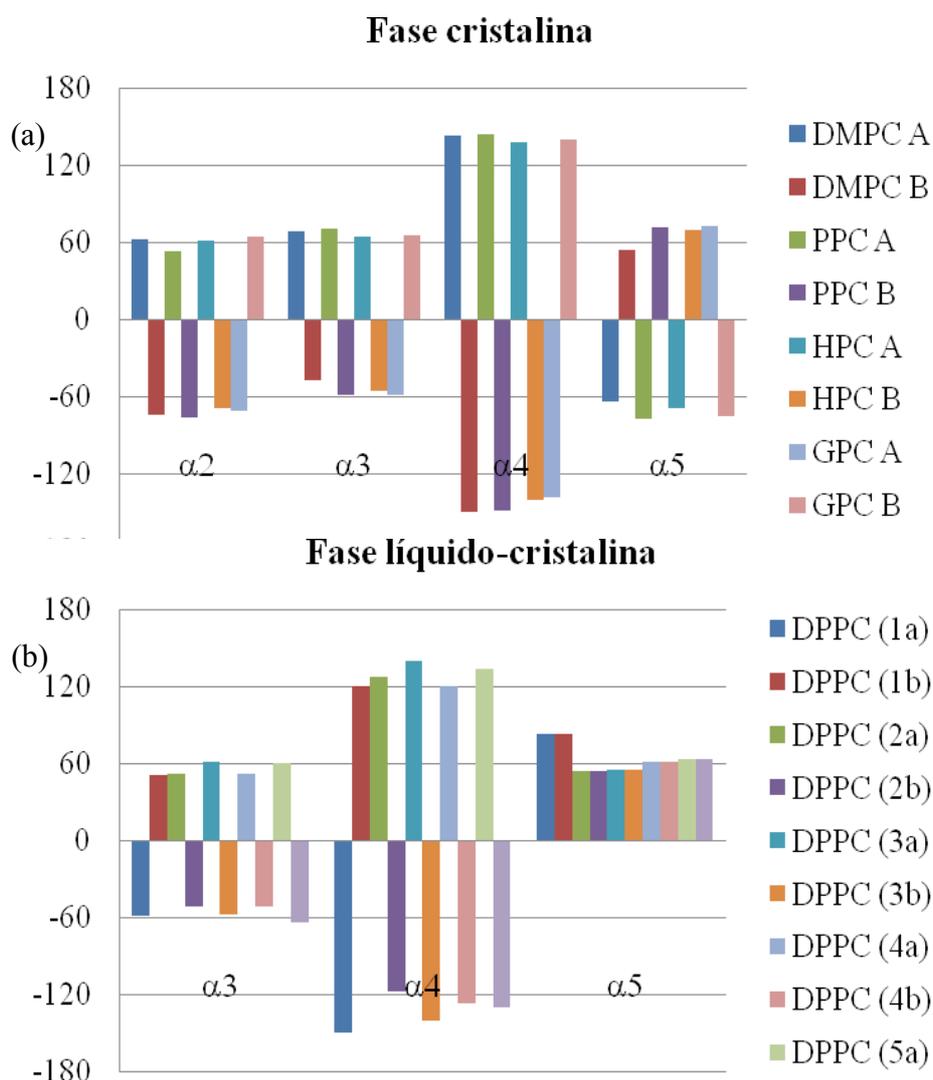


Figura 26. Valores experimentais dos parâmetros geométricos α_2 , α_3 , α_4 e α_5 para derivados da fosfocolina em fase cristalina (a) e líquido-cristalina (b). Nestas Figuras, as notações A/B (ou a/b) referem-se às respectivas coformações e suas imagens especulares.

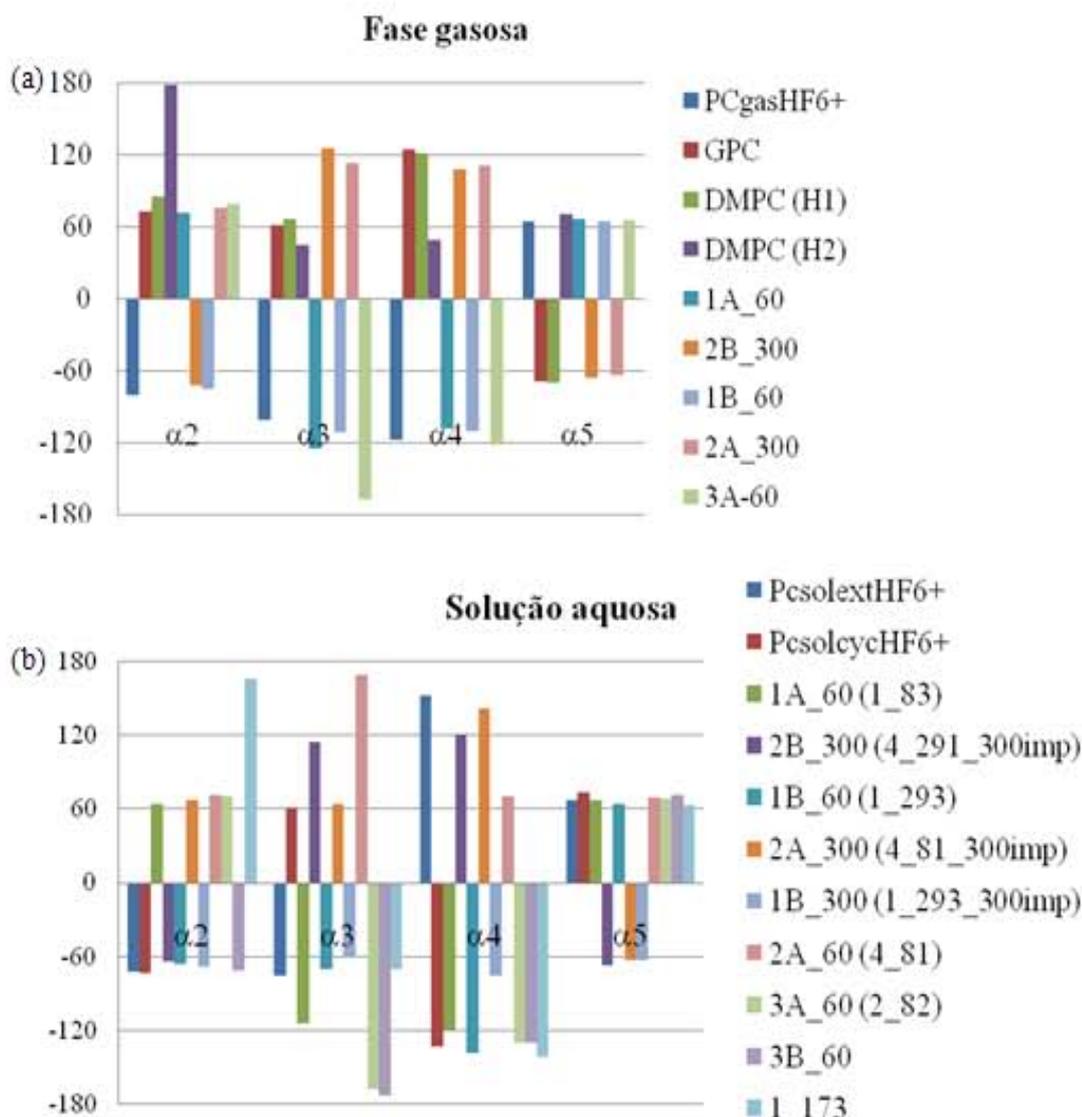


Figura 27. Valores obtidos teoricamente para os parâmetros supracitados em fase gasosa (a) e em solução (b). Na Figura (a), PCgasHF6+ é a conformação indicada na referência 34 como aquela mais abundante em fase gasosa, GPC representa a conformação obtida em fase gasosa na referência 33 e DMPC (H1/H2) as conformações em fase gasosa reportadas na referência 35. Em (b), PcsolextHF6+ e PcsolcycHF6+ são as conformações reportadas como mais abundantes em fase solução aquosa pelo trabalho da referência 32 e as conformações de 1A_60 a 1_173 são aquelas mais abundantes segundo o modelo de solvatação IEFPCM reportadas no presente trabalho.

Comparando os dois conjuntos de dados experimentais, para o sistema em ambas as fases, cristalina e líquido-cristalina, percebe-se que a principal diferença entre eles se refere aos valores de α_5 , que na fase cristalina adquire somente valores em torno de 60° , revelando a preferência destes sistemas pelas conformações não estendidas. Já na fase líquido-cristalina, podem ser encontradas tanto conformações cujos referidos

ângulos valem 60° e -60° (300°).

Em ambas as fases, os dados revelam que os valores de α_3 mais comumente encontrados são em torno de 60° (e -60°), enquanto que para α_4 entre 150° e -150° , ou, como no caso anterior, sua imagem especular.

Aliás, o padrão de imagem especular é observado para α_3 e α_4 , independentemente da fase.

Comparando os resultados obtidos neste trabalho para a MePC em fase gasosa e em solução, percebe-se que em solução os valores de α_2 e α_4 diminuem em magnitude, enquanto aqueles de α_3 aumentam, para grande parte dos confôrmeros. α_5 se altera menos com a introdução dos efeitos de solvatação.

O padrão de imagem especular é observado em ambos os casos, e uma comparação mais quantitativa seria questionável, dada a natureza distinta entre as fases onde foram obtidos os resultados teóricos e aqueles experimentais. Como parece ter sido demonstrado neste trabalho, trata-se de um sistema cuja conformação é sim influenciada pelo meio onde se encontra, mesmo que de forma pouco pronunciada.

5 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Os resultados obtidos, considerando as aproximações utilizadas, nos permitem chegar às seguintes conclusões para o estudo conformacional da metilfosfolina, realizado para o sistema isolado e segundo o modelo de solvatação IEFPCM:

- A cabeça fosfolipídica de colina é um sistema zwitterionico, que se apresenta em várias conformações estáveis tanto como sistema isolado como em solução;
- Os parâmetros diedrais que mais trazem variação na energia do sistema quando modificados são α_3 , α_4 e α_2 , respectivamente;
- O conjunto de confôrmeros mais estáveis em solução pode ser obtido através da análise conformacional realizada para o sistema isolado;
- A solvatação dos confôrmeros obtidos para o sistema isolado basicamente altera a distribuição dos confôrmeros, não criando novas conformações estáveis à temperatura ambiente, de abundância relevante;
- A consideração dos efeitos do solvente SOMENTE sobre a energia (Aproximação 1) modifica muito os valores de p_i do sistema isolado;
- A consideração dos efeitos do solvente sobre a GEOMETRIA (Aproximação 2) modifica muito os valores de p_i tanto do sistema isolado, como da Aproximação 1, não preservando-se sequer o ordenamento;
- Entretanto, as duas conformações obtidas como mais abundantes para o sistema isolado, que respondem por 66% de ocorrência, foram as mesmas encontradas na Aproximação 2 (62%);
- O padrão de imagem especular foi obtido para as conformações mais abundantes do protótipo (Aproximação 2), bem como a partir de dados experimentais, sugerindo que as conformações obtidas possam bem representar o sistema;
- Se a amostragem conformacional é realizada a partir de um mapa obtido com o efeito do solvente (Aproximação 3), são encontradas conformações com padrão de ‘imagem especular imperfeita’, em analogia ao que se obtém segundo a Aproximação 2. Sendo assim, como as conformações encontradas segundo esta última aproximação se comparam melhor com os dados experimentais, sugere-se que a amostragem seja realizada a partir da solvatação de conformações obtidas partindo-se de um mapa conformacional em fase gasosa (Aproximação 2);
- Dado o padrão de “imagem especular perfeita” observado experimentalmente para diferentes derivados da PC e os resultados obtidos para o sistema solvatado segundo a Aproximação 2, sugere-se que a amostragem conformacional em solução aquosa venha realizada segundo a Aproximação 2, que considera a solvatação e otimização de geometria em solução do conjunto completo de conformações estáveis para o sistema isolado;

- A análise conformacional para um sistema com separação de cargas tal como este parece ser adequadamente realizada quando na utilização da Teoria do Funcional da Densidade, do funcional híbrido de troca e correlação B3LYP e do conjunto de funções de base 6-31G(d,p);
- O padrão de imagem especular, típico de sistemas biológicos e observado experimentalmente para diferentes derivados da metilfosfolina, pode ser obtido teoricamente sem a utilização de quaisquer dados estruturais de origem empírica.

Na próxima etapa do trabalho pretende-se estudar a parte hidrofóbica do sistema, bem como um método teórico que descreva ambas as partes, para que um dímero ou trímero, no futuro, possa ser construído representando uma pequena porção da membrana fosfolipídica.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. J. M. Berg, J. L. Tymoczko, L. Stryer. *Biochemistry*, 5th ed. Freeman, 2002.
2. B. Alberts, A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, P. Walter. *Molecular Biology of the Cell*, 4th ed. Garland Science, 2002.
3. S. R. Bolsover, J. S. Hyams, E. A. Shephard, H. A. White, C. G. Wiedemann. *Cell Biology, a short course*, 2nd ed. John Wiley & Sons, 2004.
4. T. McKee, J. R. McKee, P. DePra. *Biochemistry: The Molecular Basis of Life*, 3th ed. McGraw Hill, 2002.
5. M. K. Jain, R. C. Vagner. *Introduction to Biological Membranes*. John Wiley & Sons, 1980.
6. H. Lodish, A. Berk, P. Matsudaira, C. A. Kaiser, M. Krieger, M. P. Scott, L. Zipursky, J. Darnell. *Molecular. Cell Biology*, 5th ed. Freeman, 2003.
7. P. Cerruti, M. S. de Huergo, M. Galvagno, C. Schebor, M. P. Buera. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 54, 575, 2000.
8. J. H. Crowe, F. Tablin, W. F. Wolkers, K. Gousset, N. M. Tsvetkova, J. Ricker. *Chemistry and Physics of Lipids*, 122, 41, 2003.
9. G. R. Satpathy, Z. Török, R. Bali, D. M. Dwyre, E. Little, N. J. Walker, F. Tablin, J. H. Crowe, N. M. Tsvetkova. *Cryobiology*, 49, 123, 2004.
10. L. K. McGinnis, L. Zhu, J. A. Lawitts, S. Bhowmick, M. Toner, J. D. Biggers. *Biology of Reproduction*, 73, 627, 2005.
11. G. Erdag, A. Eroglu, J. R. Morgan, M. Toner. *Cryobiology*, 44, 218, 2002.
12. E. Katenz, F. W. R. Vondran, R. Schwartlander, G. Pless, X. Gong, X. Cheng, P. Neuhaus, I. M. Sauer. *Liver Transplantation*, 13, 38, 2007.
13. Crowe, J. H.; Crowe, L. M. *Membranes, Metabolism and Dry Organisms*; Leopold A. C.: Ithaca University Press, 1986, Chap. 11
14. K. Oku, M. Kurose, M. Kubota, S. Fukuda, M. Kurimoto, Y. Tujisaka, A. Okabe, M. Sakurai. *J. Phys. Chem. B*, 109, 3032, 2005.
15. L. M. Sasnoor, V. P. Kale, L. S. Limaye. *Transfusion*, 45, 622, 2205.
16. W. Ma, T. O'Shaughnessy, E. Chang. *Neuroscience Letters*, 403, 84, 2006.
17. D. C. M. Nery, C. G. da Silva, D. Mariani, P. N. Fernandes, M. D. Pereira, A. D. Panek, E. C. A. Eleutherio. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1780, 1408, 2008.
18. J. H. Crowe, F. A. Hoekstra, L. M. Crowe. *Annu. Rev. Physiol.*, 52, 579, 1992.

19. L. Diniz-Mendes, E. Bernardes, P. S. de Araujo, A. D. Panek, V. M. F. Paschoalin. *Biotechnol. Bioeng.*, 65, 572, 1999.
20. C. S. Soares, C. O. Silva. *Química Nova*, 31, 280, 2008.
21. C. O. Silva, A. O. Menezes, A. V. Coelho, V. O. Paralovo, C. S. Soares. Quantum mechanical calculations on carbohydrates: conveniences and shortcomings (no prelo). In: Hugo Verli; Jorge A. Guimarães (Org.). Recent advances in the determination of carbohydrate structure and conformation. 2009.
22. F. Javaroni, A. B. Ferreira, C. O. Silva. *Carbohydrate Research*, 344, 1233, 2009.
23. A. V. Coelho, C. O. Silva. *Revista Universidade Rural Série Ciências Exatas e da Terra*, 23, 129, 2004.
24. P. Atkins, J. de Paula. *Físico-Química Biológica*. LTC, 2008.
25. (a) H. Hauser, W. Guyer, I. Pascher, P. Skrabal, S. Sundell. *Biochemistry*, 19, 366, 1980. (b) H. Akutsu, T. Nagamori. *Biochemistry*, 30, 4510, 1991. (c) E. J. Dufourc, C. Mayer, J. Stohrer, G. Althoff, G. Kothe. *Biophys. J.*, 61, 42, 1992. (d) I. Pascher, M. Lundmark, P. G. Nyholm, S. Sundell. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1113, 339, 1992.
26. (a) K. Thirumoorthy, N. Nandi, D. Vollhardt, O. N. Oliveira Jr. *Langmuir*, 22, 5398, 2006. (b) Y. Duan, C. Wu, S. Chowdhury, M. C. Lee, G. M. Xiong, W. Zhang, R. Yang, P. Cieplak, R. Luo, T. Lee, J. Caldwell, J. M. Wang, P. Kollman. *J. Comput. Chem.*, 24, 1999, 2003. (c) G. A. Kaminski, R. A. Friesner, J. Tirado-Rives, W. L. Jorgensen. *J. Phys. Chem. B*, 105, 6474, 2001. (d) S. Feller, A. D. MacKerell Jr. *J. Phys. Chem. B*, 104, 7510, 2000. (e) S. J. Marrink, A. E. Mark *Biophys. J.*, 87, 3894, 2004. (f) K. Murzyn, W. Zhao, M. Karttunen, M. Kurziel, T. Rog. *Biointerphases*, 1, 98, 2006. (g) T. Rog; K. Murzyn, M. Pasenkiewicz-Gierula. *Chem. Phys. Lett.*, 352, 323, 2002. (h) J. Chanda, S. Bandyopadhyay. *Langmuir*, 22, 3775, 2006. (i) C. J. Högberg, A. Lyubartsev. *J. Phys. Chem. B*, 110, 14326, 2006. (j) J. Thaning, C. J. Högberg, B. Stevansson, A. Lyubartsev, A. Maliniak. *J. Phys. Chem. B*, 111, 13638, 2007.
27. B. Pullman, H. Berthod. *Febs Letters*, 44, 266, 1974.
28. K. S. Bruzik, S. Harwood. *J. Am. Chem. Soc.*, 119, 6629, 1997.
29. F. Aussenac, M. Laguerre, J. M. Schmitter, E. J. Dufourc. *Langmuir*, 19, 10468, 2003.
30. B. Pullman, H. Berthod, N. Gresh. *Febs Letters*, 53, 199, 1975.
31. M. K. Jain, R. C. Vagner. *Introduction to Biological Membranes*. John Wiley & Sons, 1980.
32. B. Diner, J. P. Malrieu, P. Claverie. *Theoret. Chim. Acta* 13, 1, 1969.
33. B. Pullman, A. Pullman. *Advances Protein Chem.* 28, 347, 1974.
34. J. Landin, I. Pascher, D. Cremer. *J. Phys. Chem. A*, 101, 2996, 1997.
35. W. Li, J. B. Lagowski. *Chemistry and Physics of Lipids*, 103, 137, 1999.

36. E. Mrázková, P. Hobza, M. Bohl, D. R. Gauger, W. Pohle. *J. Phys. Chem. B*, 109, 15126, 2005.
37. S. Krishnamurty, M. Stefanov, T. Mineva, S. Bégu, J. M. Devoisselle, A. Goursot, R. Zhu, D. R. Salahub. *J. Phys. Chem. B*, 112, 13433, 2008.
38. W. Kock, M. C. Holthausen. *A Chemist's Guide to Density Functional Theory*, 2nd ed. Wiley-VCH, 2001.
39. C. J. Cramer. *Essentials of Computational Chemistry, Theories and Models*, 2nd ed. John Wiley & Sons, Ltda, 2004.
40. N. S. H. Morgori. *Métodos de Química Teórica e Modelagem Molecular*. Livraria da Física, 2007.
41. A. Szabo, N. S. Ostlund. *Modern Quantum Chemistry, Introduction to Advanced Electronic Structure Theory*. Dover Publications, Inc., 1982.
42. J. B. Foresman, Æ. Frisch. *Exploring Chemistry with Electronic Structure Methods*, 2nd ed. Gaussian, Inc., 1996.
43. J. P. Perdew, J. A. Chevary, S. H. Vosko, K. A. Jackson, M. R. Pederson, D. J. Singh, C. Fiolhais. *Phys. Rev. B*, 46, 6671, 1992.
44. J. M., Langlois, T. Yamasaki, R. P. Muller, W. A. Goddard. *J. Phys. Chem.*, 98, 13498, 1994.
45. C. Lee, W. Yang, R. G. Parr. *Phys. Rev.*, B37, 785, 1988.
46. A. D. Becke. *Phys. Rev. A.*, 38, 3098, 1988.
47. K. A. Dill, S. Bromberg. *Molecular Driving Forces: Statistical Thermodynamics in Chemistry and Biology*. Garland Science, 2003.
48. A. Fernández-Ramos, E. Cabaleiro-Lago, J. M. Hermida-Ramón, E. Martínez-Núñez, A. Peña-Gallego. *J. Mol. Struct. (Theochem)*, 498, 191, 2000.
49. J. Tomasi, B. Mennucci, R. Cammi. *Chem. Ver.*, 2999, 105, 2005.
50. M. T. Cancès, B. Mennucci, J. Tomasi. *J. Chem. Phys.*, 107, 3032, 1997.
51. B. Mennucci, J. Tomasi. *J. Chem. Phys.*, 106, 5151, 1997.
52. R. Cammi, B. Mennucci, J. Tomasi. *Computational Chemistry, Review of current trends*, v. 8. World Scientific, 2003.
53. J. Tomasi, B. Mennucci, R. Cammi. *Quantum Mechanical Continuum Solvation Models. Chemical Reviews*, 105, No. 8, 2999-3093, 2005.
54. A. Bondi. *J. Phys. Chem.*, 68, No. 3, 441, 1964.

55. A. D. Becke. *J. Chem. Phys.*, 98, 1372, 1993.
56. G. P. Vitorino, G. D. Barrera, M. R. Mazzieri, R. C. Binning Jr., D. E. Babelo. *Chem. Phys. Let.*, 432, 538, 2006.
57. Jaguar, version 7.5, Schrodinger, LLC, New York, NY, 2008.
58. Gaussian 03, Revision C.01, M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, J. A. Montgomery, Jr., T. Vreven, K. N. Kudin, J. C. Burant, J. M. Millam, S. S. Iyengar, J. Tomasi, V. Barone, B. Mennucci, M. Cossi, G. Scalmani, N. Rega, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, M. Klene, X. Li, J. E. Knox, H. P. Hratchian, J. B. Cross, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, P. Y. Ayala, K. Morokuma, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, V. G. Zakrzewski, S. Dapprich, A. D. Daniels, M. C. Strain, O. Farkas, D. K. Malick, A. D. Rabuck, K. Raghavachari, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, Q. Cui, A. G. Baboul, S. Clifford, J. Cioslowski, B. B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R. L. Martin, D. J. Fox, T. Keith, M. A. Al-Laham, C. Y. Peng, A. Nanayakkara, M. Challacombe, P. M. W. Gill, B. Johnson, W. Chen, M. W. Wong, C. Gonzalez, and J. A. Pople, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2004.
59. M. M. Francl, W. J. Pietro, W. J. Hehre, J. S. Binkley, M. S. Gordon, D. J. DeFrees, J. A. Pople. *J. Chem. Phys.*, 77, 3654, 1982.
60. Jaguar, version 6.0, Schrödinger, LLC, New York, NY, 2005
61. A. D. McLean, G. S. Chandler. *J. Chem. Phys.*, 72, 5639, 1980.

ANEXO A - Valores otimizados para os principais parâmetros geométricos obtidos a partir da variação sistemática do ângulo diedro α_5 para cada um dos confôrmeros pertencentes ao conjunto de conformações cujos parâmetros α_1 , α_2 , α_3 e α_4 minimizam a energia do sistema. Os valores de população de Boltzmann (p_i) estão em porcentagem. Os resultados reportados nesta Tabela são referentes ao processo de otimização completa de geometria utilizando o conjunto de funções de base 6-31G(d,p), referenciado como DZ. Com o objetivo de facilitar a observação do padrão de imagem especular observado para algumas das conformações listadas nesta Tabela, a escala de representação dos ângulos foi mudada de 0° – 360° para -180° – 180° .

Confôrmero	α_1	α_2	α_3	α_4	α_5	p_i
<i>1A_60</i>	-73	73	-125	-108	66	11
1A_180	-73	73	-169	-70	123	0
1A_300	-73	73	-126	-70	-52	0
<i>1B_60</i>	-49	-77	-112	-111	64	33
1B_180	-49	-77	-57	-70	127	0
1B_300	-49	-77	-92	-70	-46	1
<i>2A_60</i>	-75	76	151	49	65	0
2A_300	-75	76	113	111	-64	34
<i>2B_60</i>	-49	-73	155	49	65	2
2B_300	-49	-73	125	108	-66	11
<i>3A_60</i>	-74	76	-167	-122	65	7
<i>3B_60</i>	-47	-77	-155	-121	63	1
3B_180	-47	-77	-166	-71	123	0

As conformações 1A_180 e 3A_180 convergiram para um único confôrmero, bem como as conformações 1A_300 e 3A_300 e 1B_300 e 3B_300, sendo renomeadas 1A_300, 1B_300 e 1A_300, respectivamente.

As conformações 2A_180 e 2A_300 convergiram para um único confôrmero, bem como as conformações 2B_180 e 2B_300, sendo renomeados 2A_300 e 2B_300, respectivamente.

Nesta tabela, as notações *_60, *_180 e *_300 referem-se aos valores de partida para o ângulo diedro α_5 em cada uma das otimizações de geometria e as conformações grifadas em itálicos são àquelas que permanecem nas regiões de energia mínima identificadas no mapa conformacional da Figura 6.

ANEXO B - Valores otimizados para os principais parâmetros geométricos obtidos a partir da variação sistemática do ângulo diedro α_5 para cada um dos confôrmeros pertencentes ao conjunto de conformações cujos parâmetros α_1 , α_2 , α_3 e α_4 minimizam a energia do sistema. Os valores de população de Boltzmann (p_i) estão em porcentagem. Os resultados reportados nesta Tabela são referentes ao processo de otimização completa de geometria utilizando o conjunto de funções de base 6-311++G(d,p), referenciado como TZ. Com o objetivo de facilitar a observação do padrão de imagem especular observado para algumas das conformações listadas nesta Tabela, a escala de representação dos ângulos foi mudada de 0° – 360° para -180° – 180° .

Confôrmero	α_1	α_2	α_3	α_4	α_5	p_i
<i>1A_60</i>	-71	72	-126	-109	66	8
1A_180	-71	73	-170	-71	122	0
1A_300	-71	74	-133	-72	-53	0
<i>1B_60</i>	-49	-75	-109	-113	65	35
1B_180	-52	-86	-58	-69	128	0
1B_300	-51	-77	-88	-73	-48	2
<i>2A_60</i>	-74	75	152	48	66	0
2A_180	-74	75	167	70	-122	0
2A_300	-72	76	108	113	-65	36
<i>2B_60</i>	-50	-75	163	50	67	2
2B_180	-50	-73	170	71	-122	0
2B_300	-42	-72	126	109	294	7
<i>3A_60</i>	-72	79	-176	-123	66	10
3B_180	-48	-96	-167	-70	122	0

As conformações 1A_180 e 3A_180 convergiram para um único confôrmero, bem como as conformações 1A_300 e 3A_300 e 1B_300 e 3B_300, sendo renomeadas 1A_300, 1B_300 e 1A_300, respectivamente. As conformações *1A_60* e *3B_60* também convergiram para um único confôrmero, denominado confôrmero *1A_60*.

Nesta tabela, as notações *_60, *_180 e *_300 referem-se aos valores de partida para o ângulo diedro α_5 em cada uma das otimizações de geometria e as conformações grifadas em itálicos são àquelas que permanecem nas regiões de energia mínima identificadas no mapa conformacional da Figura 6.

ANEXO C - Valores reotimizados (6-31G(d,p)) para os principais parâmetros geométricos obtidos a partir da variação sistemática do ângulo diedro α_5 para cada um dos confôrmeros pertencentes ao conjunto de conformações cujos parâmetros α_1 , α_2 , α_3 e α_4 minimizam a energia do sistema (Anexo A). Os valores de população de Boltzmann (p_i) estão em porcentagem. Os resultados reportados nesta Tabela são referentes ao processo de otimização completa de geometria utilizando o “grid” de integração “maximum” para o cálculo dos termos de troca e correlação da energia. Com o objetivo de facilitar a observação do padrão de imagem especular observado para algumas das conformações listadas nesta Tabela, a escala de representação dos ângulos foi mudada de 0° – 360° para -180° – 180° .

Confôrmero	α_1	α_2	α_3	α_4	α_5	p_i
<i>1A_60</i>	-72	71	-125	-108	66	12
1A_180	-73	74	-170	-70	123	0
1A_300	-73	73	-127	-70	-52	0
<i>1B_60</i>	-48	-75	-112	-112	64	32
1B_180	-50	-72	-57	-67	127	0
1B_300	-47	-64	-91	-72	-46	1
<i>2A_60</i>	-76	76	151	49	65	0
2A_300	-73	75	112	112	-64	32
<i>2B_60</i>	-48	-75	159	50	65	3
2B_300	-50	-72	125	108	-66	12
<i>3A_60</i>	-74	78	-168	-122	65	8
<i>3B_60</i>	-47	-77	-154	-120	63	0
3B_180	-45	-77	-166	-71	123	0

Nesta tabela, as notações *_60, *_180 e *_300 referem-se aos valores de partida para o ângulo diedro α_5 em cada uma das otimizações de geometria e as conformações grifadas em itálicos são àquelas que permanecem nas regiões de energia mínima identificadas no mapa conformacional da Figura 6.

ANEXO D - Valores dos parâmetros geométricos otimizados em solução segundo o modelo de solvatação IEFPCM para cada um dos confôrmeros pertencentes ao conjunto final de conformações estáveis em fase gasosa (Anexo A). Os valores dos ângulos diedro estão em graus e as populações de Boltzmann em porcentagem.

Confôrmero	α_1	α_2	α_3	α_4	α_5	p_i
1A_60	-70	64	-114	-121	67	3
1A_180	-69	68	-162	-81	127	0
1A_180 _{imp}	-68	63	-147	-82	-171	1
1A_300	-69	66	-141	-83	-53	1
1B_60	-58	-66	-70	-138	64	35
1B_180	-55	-65	-72	-87	161	1
1B_180 _{imp}	-110	-66	-70	-89	-179	0
1B_300	-56	-68	-61	-75	-63	20
2A_60	-76	71	169	70	69	0
2A_180 _{imp}	-69	69	-156	91	-179	0
2A_300	-63	67	64	141	-63	27
2B_60	-53	-68	168	71	68	2
2B_180 _{imp}	-52	-69	168	86	176	0
2B_300	-52	-64	114	121	-67	4
3A_60	-70	70	-168	-130	68	4
3A_180 _{imp}	-69	69	-166	-85	-177	0
3B_60	-50	-71	-173	-130	71	3
3B_180	-50	-78	-168	-77	130	0
3B_180 _{imp}	-50	-71	-179	-85	-176	0

ANEXO E - Valores dos parâmetros geométricos otimizados em solução segundo o modelo de solvatação IEFPCM para cada um dos confôrmeros pertencentes ao conjunto final de conformações estáveis em solução, provenientes da avaliação do diedro $\alpha 5$. Os ângulos diedros estão em graus e as populações de Boltzmann (p_i) em porcentagem.

Confôrmero	$\alpha 2$	$\alpha 3$	$\alpha 4$	$\alpha 5$	p_i
1_83	64	-114	-121	67	3
1_83_300 _{imp}	65	-121	-83	-54	1
1_173	166	-70	-141	63	3
1_173_300 _{imp}	163	-76	143	-67	2
1_293	-67	-64	-140	64	55
1_293_300 _{imp}	-69	-69	-150	-65	10
2_82	70	-168	-129	68	4
2-82_300 _{imp}	68	-166	-71	-68	2
2_172	172	-173	-130	70	1
2_172_300 _{imp}	168	142	-150	-59	0
2_292	-69	-173	-130	71	2
2_292_300 _{imp}	-69	150	-151	-62	0
4_81	72	170	70	69	3
4_81_300 _{imp}	64	89	130	-64	3
4_171	162	166	70	68	0
4_171_300 _{imp}	169	103	124	-66	1
4_291	-69	169	71	68	2
4_291_300 _{imp}	-64	115	121	-67	4
5_159	158	-73	91	64	0
5_159_300 _{imp}	172	-131	128	-68	0
5_279	-81	-81	110	68	0
5_279_300 _{imp}	-71	-142	132	-67	2

Louvado seja Deus!