

Universidade de Brasília
Instituto de Química

Programa de Pós-graduação em Química

Tese de Doutorado

**Estudo Teórico das Interações Mg^{2+} e
Bases Nucleotídicas**

Maria Aparecida da Silva Prado

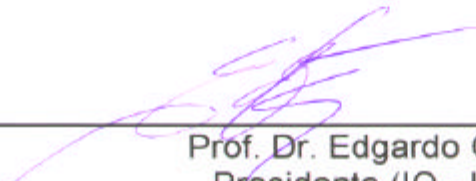
Orientador: Prof. Dr. Edgardo García

Brasília
2006




COMUNICADO


Comunicamos a aprovação da Defesa de Tese de Doutorado da aluna Maria Aparecida da Silva Prado, intitulada "**Estudo Teórico das Interações Mg⁺² e Bases Nucleotídicas**", apresentada no Instituto de Química da Universidade de Brasília em 6 de julho de 2006.



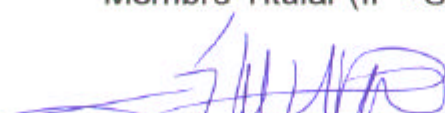
Prof. Dr. Edgardo Garcia
Presidente (IQ - UnB)




Prof. Dr. João Batista Lopes Martins
Membro Titular (IQ - UnB)



Prof. Dr. Ricardo Gargano
Membro Titular (IF - UnB)



Prof. Dr. José Roberto dos Santos Politi
Membro Titular (IQ - UnB)



Prof. Dr. Julio Ricardo Sambrano
Membro Titular (UNESP)

Brasília, 6 de julho de 2006.

*Aos meus pais,
com quem aprendi as coisas mais básicas
e, provavelmente, mais importantes da vida...*

*Ao Augusto,
Pelos tempos idos e vividos... Pelo porvir...
Pelo carinho, respeito e amor que compartilhamos...*

*À Cecília,
Pela experiência sublime da maternidade,
pelos momentos que desvelaram-me o milagre da vida...
Por tornar a nossa vida mais bela e feliz...*

Agradecimentos

A tese que ora se apresenta resulta, naturalmente, do esforço de várias pessoas, com as quais me sinto profundamente agradecida e com quem estarei sempre em débito.

Estou certa de que qualquer relação de nomes seria, acidentalmente, injusta; no entanto, seria igualmente injusto não mencionar, mesmo que de forma possivelmente inadequada, aqueles que, de um modo ou de outro, tornaram possível a realização deste trabalho.

Meus mais sinceros agradecimentos àqueles com quem tive o privilégio de trabalhar e conviver:

Ao professor Edgardo García;

Aos Professores João Batista, Roberto Politi e Amarílis;

Aos colegas e amigos de laboratório, Glauciete, Tiago, Rafael, Jorélia, Antônio, Elton, Sandra, Paulo, Larissa, Érica, Aline;

A Vênis, Júnior e Inocência, da secretaria do Instituto de Química;

Aos demais colegas e amigos, Mazé, Ana Paula, Adriana, Carlos Cezar e Polly;

Ao meu amigo Marcelo Henrique;

À minha amiga Adriana;

Aos meus pais, João Batista e Maria Teodora e aos meus irmãos Paulo Henrique, Marcos, Eloísa, Eloina, Márcia e Ana Paula;

Ao meu amor Augusto;

Ao CNPq.

Minha gratidão a todos. Por inúmeras coisas:

Pela orientação e oportunidade;

Pelo envolvimento direto neste trabalho e pelo tempo, cedido gentilmente;

Por todas as conversas e discussões acadêmicas. E, é claro, por todos os momentos de descontração;

Pela paciência, disponibilidade e convívio de tantos anos

Pelo incentivo, apoio e compreensão e acima de tudo, por serem tão amigos;

Por toda a atenção e preocupação;

Pela companhia, tão próxima e íntima, apesar de tão distante.

Pelo apoio financeiro e pelas condições de trabalho e disponibilidade de recursos técnicos.

Resumo

Neste trabalho, estudamos as formas de interação e as energias de complexação em sistemas compostos de bases nucleotídicas, íons Mg^{2+} e H_2O , utilizando-se cálculos *ab initio*. A partir dos resultados obtidos, fizemos uma avaliação da aplicabilidade de campos de força e métodos semi-empíricos para estudar estes sistemas. Os cálculos *ab initio* de alto nível foram realizados com o objetivo de indicar, em primeiro lugar, os efeitos importantes e que devem ser considerados no estudo de tais sistemas. Nesta etapa, analisamos os efeitos de correlação eletrônica, o efeito de muitos corpos e o efeito BSSE (*basis set superposition error*). Os efeitos de correlação eletrônica foram importantes no estudo das energias de interação dos complexos; o efeito de muitos corpos, por sua vez, se mostrou importante no estudo das energias de interação dos complexos formados, e deve ser considerado ao se utilizar metodologias baseadas em soma de interações individuais. Além disso, foi feita uma avaliação de métodos e funções de bases, com o intuito de se estabelecer uma metodologia adequada para o estudo das interações nucleobases- $[Mg(H_2O)_n]^{2+}$ e nucleobases- $(H_2O)_n$. Definiu-se, então, a partir dos resultados obtidos, métodos e conjuntos de base que pudessem representar os sistemas analisados mais adequadamente. Os resultados de cálculos utilizando campos de força e métodos semi-empíricos, quando comparados aos resultados *ab initio*, se mostraram altamente limitados para o estudo destes sistemas.

Abstract

In this work, we analyzed the forms of interaction and energetic behavior of systems composed of nucleic bases, magnesium ions, and water with *ab initio* methods. Based on the obtained results we evaluated the possible use of force fields and semi empirical methods on these systems. High-level *ab initio* calculations were performed aimed at revealing the important effects which should be considered in our study. Electronic correlation and many-body effects were shown to be important to the study of the interaction energy of the complexes. Many-body effects on interaction energies must be considered when accurate energies are pursued. We also evaluated different basis functions and *ab initio* methods in order to establish a proper methodology to the study of the systems nucleic bases- $[\text{Mg}(\text{H}_2\text{O})_n]^{2+}$ e nucleic bases- $(\text{H}_2\text{O})_n$. Force fields and semi empirical methods, on the other hand, were shown to be severely limited to this study.

Sumário

Lista de Figuras.	ix
Lista de Tabelas.	x

Capítulo 1 - Introdução

1.1 Introdução	01
1.2 Justificativa	08
1.3 Objetivos	10

Capítulo 2 – Fundamentos teóricos

2.1 Introdução	11
2.2 Métodos Quânticos	11
2.2.1 A aproximação Hartree-Fock	14
2.2.2 Funções de base e superposição de base	19
2.2.3 Correlação eletrônica	22
2.2.4 Teoria da Perturbação	23
2.2.5 Coupled Cluster	27
2.2.6 Teoria do Funcional de Densidade	29

Capítulo 3 – Resultados e análise

3.1 Estudo da interação da Citosina com o íon Mg^{2+}	34
3.1.1 O sistema estudado e o nível de cálculo	34
3.1.2 Resultados e análise	37
3.1.3 Conclusões	47
3.2 Estudo da interação das nucleobases com Mg^{2+}	49
3.2.1 Os sistemas estudados e o nível de cálculo	49
3.2.2 Resultados e análise	51
3.2.3 Conclusões	63
3.3 Estudo das interações das nucleobases com $[Mg(H_2O)_n]^{2+}$ e com $(H_2O)_n$	64
3.3.1 Os sistemas estudados e nível de cálculo	64
3.3.2 Resultados e análise	67
3.3.2.1 O complexo $[Mg(H_2O)_6]^{2+}$ - Estudo de bases, campos de força e métodos semi-empíricos.	67
3.3.2.2 Complexos Adenina- $[Mg(H_2O)_6]^{2+}$ e Adenina- $(H_2O)_2$ - Estudo de bases e BSSE	75
3.3.2.3 Complexos nucleobases- $[Mg(H_2O)_n]^{2+}$ - Bases mínima e de alto momento angular, campos de força e métodos semi-empíricos.	77
3.3.2.4 Complexos nucleobases- $(H_2O)_n$ - <i>ab initio</i> , campos de força e semi-empírico	84
3.3.2.5 Efeitos de muitos corpos.....	89

Capítulo 4 – Conclusões e perspectivas

4.1 Conclusões e Perspectivas	92
4.2 Bibliografia	95

Lista de Figuras

Figura 1 – Bases nucleotídicas purínicas e pirimidínicas do DNA (adenina, timina, citosina e guanina) e do RNA (adenina, uracila, citosina e guanina)	05
Figura 1.1 – Configurações do sistema citosina-Mg ²⁺ , com o cátion próximo ao N4 da nucleobase	34
Figura 1.2 – Configurações do complexo citosina-Mg ²⁺ . A localização dos sítios de interação corresponde aos contatos entre o Mg ²⁺ e a citosina. (----) indica interações no plano e (.....), interações fora do plano. Os números, na figura no canto superior esquerdo, indicam o rótulo do átomo que será usado ao longo do trabalho.....	37
Figura 1.3 – Energia de interação em relação à estrutura mais estável ($\Delta E - \Delta E_0$)*100/ ΔE_0 . Mg ²⁺ fixado a 4 Å (a) e 6 Å (b) do sítio de interação.....	39
Figura 1.4 – Orbital HOMO: (a) citosina livre e (b) complexo citosina-Mg ²⁺ , na geometria F.....	40
Figura 1.5 – Conformações dos três principais mínimos resultantes da otimização das 7 geometrias iniciais (A, B, C, D, E, F e G, Figura 1.1), no nível HF/6-31+G*. Parâmetros geométricos - comprimento de ligação e ângulo de ligação – da citosina livre e dos complexos citosina-Mg ²⁺	45
Figura 2.1 – Configurações dos complexos nucleobases-Mg ²⁺ estudados. A posição do Mg ²⁺ em relação à nucleobase corresponde ao sítio de interação metal-nucleobase. (----) indica interações no plano e (.....) indica interações fora do plano.....	50
Figura 2.2 – Geometrias dos complexos nucleobase-Mg ²⁺ , otimizadas no nível HF/6-31+G*.....	57
Figura 2.3 – Parâmetros geométricos. Comprimento e ângulo de ligação - das nucleobases isoladas e das nucleobases no complexo com o Mg ²⁺ . As geometrias, tanto da nucleobase livre quanto do complexo, foram otimizadas no nível HF.....	60
Figura 2.4 – Geometrias de menor energia dos complexos nucleobase-Mg ²⁺ , obtidas no nível HF/6-31+G*. As setas indicam a magnitude e direção do dipolo na nucleobase isolada e na nucleobase complexada com o Mg ²⁺ . Os números indicam o valor do dipolo (Debye).....	61
Figura 3.1 – Conformações dos complexos nucleobases-[Mg(H ₂ O) _n] ²⁺ obtidas após otimizações HF/6-31+G*	65
Figura 3.2 – Conformação dos complexos nucleobases-(H ₂ O) _n obtidas com otimizações HF/6-31+G*	66

Lista de Tabelas

Tabela 1.1 - Energia de interação HF, em kcal.mol ⁻¹ , do sistema citosina-Mg ²⁺ , sem correção BSSE.....	35
Tabela 1.2 - Energias de interação, ΔE (kcal.mol ⁻¹), do complexo citosina-Mg ²⁺ , em diferentes configurações, com o magnésio posicionado a 4 e 6 Å de distância do sítio de interação ^a	38
Tabela 1.3 - Cargas atômicas parciais do magnésio, Chelpg e Mulliken, no sistema citosina-Mg ²⁺ para o íon posicionado a 4 e 6 Å do sítio de interação da citosina ^{a,b}	40
Tabela 1.4 - Valores de δ_{BSSE} , em kcal.mol ⁻¹ , para as energias de interação do complexo citosina-Mg ²⁺	41
Tabela 1.5 - Energia de interação, ΔE (em kcal/mol), para os complexos citosina-Mg ²⁺	42
Tabela 1.6 - Carga atômica parcial, ChelpG (em e), para o magnésio, no complexo citosina-Mg ²⁺	43
Tabela 1.7 - Energia de interação, em kcal.mol ⁻¹ , do complexo citosina-Mg ²⁺ , nas geometrias otimizadas em nível HF, B3LYP e MP2.....	46
Tabela 1.8 - Carga parcial Chelpg (e) do magnésio e dos átomos do sítio de interação do sistema otimizado.	47
Tabela 2.1 - Energia de interação HF, em kcal.mol ⁻¹ , para os complexos nucleobases-Mg ²⁺ com o íon Mg(II) posicionado a 4 e 6 Å de distância do sítio de interação ^a	51
Tabela 2.2 - Energia de interação B3LYP, em kcal.mol ⁻¹ , para complexos de Nucleobases-Mg ²⁺ com o íon Mg(II) posicionado a 4 e 6 Å de distância do sítio de interação.	52
Tabela 2.3 - Energia de interação MP2, em kcal.mol ⁻¹ , para complexos nucleobases-Mg ²⁺ com o íon Mg(II) posicionado a 4 e 6 Å de distância do sítio de interação.	52
Tabela 2.4 - Carga atômica parcial do magnésio, ChelpG e Mulliken ^a , com o Mg(II) posicionado a 4 e 6 Å de distância do sítio de ligação da nucleobase. Valores obtidos com o método HF.	53
Tabela 2.5 - Carga atômica parcial, ChelpG e Mulliken ^a , do magnésio, com o Mg(II) posicionado a 4 e 6 Å de distância do sítio de ligação da nucleobase. Valores obtidos com o método B3LYP.	54
Tabela 2.6 - Carga atômica parcial do magnésio, ChelpG e Mulliken ^a , com o	

Mg(II) posicionado a 4 e 6 Å de distância do sítio de ligação da nucleobase. Valores obtidos com o método MP2.	54
Tabela 2.7 - Carga atômica parcial ChelpG, do magnésio e dos átomos pertencentes ao sítio de interação na nucleobase livre e nos complexos nucleobases-Mg ²⁺ com o Mg(II) fixado a 4 e 6 Å de distância do sítio de interação.	55
Tabela 2.8 - Energia de interação, em kcal mol ⁻¹ , dos complexos nucleobase-Mg ²⁺ , das geometrias mais estáveis.	58
Tabela 2.9 - Carga atômica parcial, Chelpg (em e), do magnésio e dos átomos do sítio de interação das nucleobases, na geometria no mínimo de energia obtidas no nível HF (Figura 2.3).....	62
Tabela 3.1 - Estudo de convergência da base para o complexo [Mg(H ₂ O) ₆] ²⁺ . Energia de interação, ?E, em kcal/mol.	70
Tabela 3.2 - Estudo de bases para o complexo [Mg(H ₂ O) ₆] ²⁺ , utilizando os métodos BP e pBP.	70
Tabela 3.3 - Estudo de bases para o complexo [Mg(H ₂ O) ₆] ²⁺ . Energia de interação, ?E, em kcal/mol.	71
Tabela 3.4 - Energia de interação, ?E, do complexo [Mg-(H ₂ O) ₆] ²⁺ , obtidas com campos de força, para diferentes geometrias.	73
Tabela 3.5 - Energia de interação, ?E, do complexo [Mg-(H ₂ O) ₆] ²⁺ , obtidas com métodos semi-empíricos, para diferentes geometrias.	74
Tabela 3.6 - Estudo de convergência da base e efeito BSSE para os complexos Adenina-[Mg(H ₂ O) ₆] ²⁺ e adenina-(H ₂ O) ₂	76
Tabela 3.7 - Energia de interação, ?E, dos complexos nucleobases-[Mg(H ₂ O) _n] ²⁺ . Os valores são apresentados com correção BSSE.	79
Tabela 3.8 - Energia de interação, ?E, para os complexos nucleobases-[Mg(H ₂ O) _n] ²⁺ , obtidas com os métodos semi-empíricos e campos de força.	82
Tabela 3.9 - Energia de hidratação, ?E, para os complexos nucleobase-(H ₂ O) _n - métodos <i>ab initio</i>	86
Tabela 3.10 - Energia de interação, ?E, dos complexos nucleobases-(H ₂ O) _n - métodos semi-empíricos e campos de força.	87
Tabela 3.11 - Energias de interação, ?E (kcal/mol), dos complexos nucleobase-[Mg(H ₂ O) ₆] ²⁺ e nucleobase-(H ₂ O) _n - valores sem correção bsse.	88
Tabela 3.12 - Valores de EMC, em kcal/mol e %, para energia de interação dos complexos [Mg(H ₂ O) ₆] ²⁺ e nucleobases-[Mg(H ₂ O) ₄] ²⁺	90

Tabela 3.13 - Valores de EMC, em kcal/mol e %, para energia de interação dos complexos com $(\text{H}_2\text{O})_3$ e nucleobases- $(\text{H}_2\text{O})_n$91

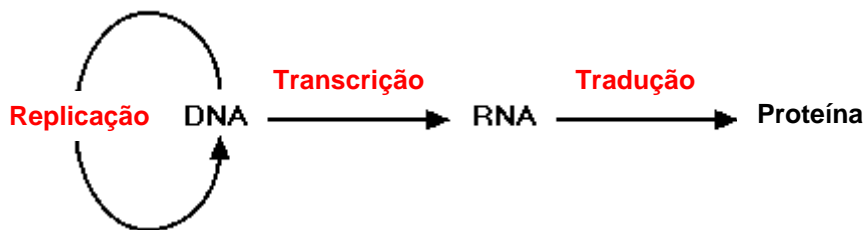
Capítulo 1

Introdução

1.1 Introdução

O ácido desoxirribonucléico (*deoxyribonucleic acid*, DNA) é o componente cromossômico responsável pela armazenagem e transmissão da informação genética, com a qual é possível construir uma célula ou todo um organismo multicelular. A exata duplicação do DNA assegura a manutenção das espécies, de geração a geração. A natureza conservadora da estrutura do DNA e a pouca variedade de seus grupos químicos constituintes conferem a essa molécula características fundamentais na preservação da informação genética. Apesar disso, é importante reconhecer que a estrutura do DNA é dinâmica, permitindo o seu envolvimento em diversos processos celulares, tais como a replicação, a transcrição e a recombinação. Além disso, desvios significativos da estrutura da dupla hélice são observados na natureza, desempenhando um papel importante no metabolismo do DNA.

Além do DNA, o ácido ribonucleico (*ribonucleic acid*, RNA) desempenha um papel fundamental nas células, sobretudo na expressão da informação genética. De acordo com o dogma central da vida, o DNA dirige a síntese de RNA, através do processo de Transcrição; o RNA, por sua vez, atua como molde na síntese de proteínas, no processo de Tradução.



Moléculas de RNA participam, ainda, de uma série de outros processos biológicos. Entre os vários tipos de RNA, podemos destacar: o RNA ribossomal (rRNA), que constitui a maior parte dos ribossomos, o local da síntese proteica; o RNA mensageiro (mRNA), que especifica a seqüência dos aminoácidos nas proteínas; o RNA transportador (tRNA), essencial na decifração do código genético, que carrega aminoácidos específicos e os “entrega”, nos ribossomos, à cadeia

polipeptídica em crescimento, de acordo com a seqüência de nucleobases^a presente no mRNA; pequenos RNAs nucleares (snRNAs), que participam do *splicing* de exons no núcleo^b; o RNA constituinte do SRP (*signal recognition particle*, SRP), responsável pelo endereçamento de proteínas ao retículo endoplasmático; e RNA enzimas (ribozimas), que catalisam reações envolvendo RNA e DNA.

Em todos estes importantes processos envolvendo os ácidos nucléicos, a participação de cátions metálicos - metais alcalinos, alcalinos terrosos e metais de transição - é essencial, desempenhando funções estruturais, regulatórias e catalíticas.

A habilidade para formar estruturas tridimensionais complexas, essenciais no reconhecimento molecular e processos catalíticos, é uma característica importante dos ácidos nucléicos e, especialmente, do RNA, cuja natureza multifuncional está associada à sua versatilidade estrutural. A alta densidade de cargas negativas em moléculas de DNA e RNA dificulta a formação de estruturas compactas e estáveis; por esta razão, a presença de cátions que possam interagir com essas regiões altamente negativas, reduzindo a repulsão eletrostática, é fundamental na organização estrutural dos ácidos nucléicos.

Moléculas de RNA podem atingir seu estado tridimensional característico apenas se complexadas com cátions, mono e divalentes, e/ou policátions, como as poliaminas. Cátions divalentes, como o Mg^{2+} , são, normalmente, mais eficientes neste processo do que cátions monovalentes. Concentrações na faixa de milimolar de Mg^{2+} estabilizam estruturas terciárias de RNA; cátions monovalentes, por outro lado, mesmo em concentrações significativamente maiores, não o fazem de forma eficiente.² Embora haja ampla literatura sobre a interação íons-RNA, a razão da maior eficiência do Mg^{2+} na estabilização de estruturas secundárias e terciárias de RNA, em relação aos cátions monovalentes, ainda não é bem compreendida.³

O *splicing* é um exemplo ilustrativo da importância dos íons nos processos celulares que envolvem os ácidos nucléicos. Todas as rotas que promovem o *splicing*

^a As bases nitrogenadas dos ácidos nucleicos serão chamadas, neste trabalho, de nucleobases, a fim de se evitar confusões com o termo bases, utilizado para se referir a um conjunto de base.

^b Os genes de organismos eucariotos são constituídos de seqüências codificadoras (exons) e não codificadoras (introns). Após o processo de transcrição, a molécula de RNA recém-sintetizada é chamada de transcrito primário. No processo de *splicing*, os introns são removidos e os exons unidos entre si, formando o mRNA, que irá dirigir a síntese protéica.¹

do RNA são dependentes de Mg^{2+} , tanto para a formação da estrutura conformacional adequada, quanto para a catálise química.⁴ Na tentativa de descobrir quais enzimas participavam da reação de remoção dos introns, no início da década de 80, Thomas Cech e colaboradores observaram que o RNA era, na verdade, autoprocessado.⁵ A descoberta de que moléculas de RNA poderiam ter funções catalíticas foi muito importante na compreensão dos sistemas biológicos. O envolvimento do RNA na expressão da informação genética e, ao mesmo tempo, na catálise de reações biológicas causou um verdadeiro entusiasmo no meio científico. Intensas pesquisas sobre os RNAs catalíticos revelaram que outras reações, além do *splicing*, podiam ser catalisadas por ribozimas. Estas pesquisas mostraram que as ribozimas ocorrem naturalmente em bactérias, vírus e em alguns eucariotos (como plantas). A partir de então, estudos mostraram que os RNAs catalíticos são dependentes de cátions, especialmente, de cátions divalentes.⁶

As ribozimas estão separadas em duas grandes classes, de acordo com seu tamanho e mecanismo de reação: grandes RNAs catalíticos e pequenos RNAs catalíticos. Os grandes RNAs são moléculas cujo tamanho pode variar de poucas centenas até cerca de 3000 nucleotídeos. Estas ribozimas catalisam reações que geram intermediários e produtos com 3'-hidroxil e 5'-fosfato. Os pequenos RNAs catalíticos possuem tamanhos que variam de, aproximadamente, 35 a 155 nucleotídeos, e usam a hidroxila 2' como nucleófilo, gerando produtos com 2',3'-ciclofosfato e 5'-hidroxil. Os grandes RNAs catalíticos requerem cátions divalentes, especialmente, Mg^{2+} ; já o papel dos cátions divalentes para os pequenos RNAs catalíticos não é tão claro, mas eles são, geralmente, considerados essenciais para a catálise.⁶

No início da década de 90, Breaker e Joyce mostraram que o DNA também pode apresentar atividade catalítica, clivando substratos de RNA de forma eficiente e específica, sob condições fisiológicas e na presença de íons metálicos.⁷ DNA enzimas, denominadas de desoxirribozimas, foram criadas utilizando-se fita simples de DNA e métodos de seleção *in vitro*.⁸ Uma das vantagens das desoxirribozimas, em relação as ribozimas, consiste na sua maior resistência à degradação química e enzimática, devido a ausência do grupo 2'-OH na pentose.

Os primeiros estudos sobre a interação de ácidos nucléicos com cátions metálicos, ainda na década de 20, sugeriram que o Na^+ , além de outros metais disponíveis no núcleo da célula, eram importantes para “balancear” a carga negativa do, mais tarde chamado, DNA.⁹ Nos anos 50, importantes trabalhos deram início ao estudo sistemático do DNA em interação com metais; Katz demonstrou que mudanças reversíveis nas propriedades físico-químicas do DNA podem ocorrer na presença de cátions Hg^{2+} .¹⁰ Nesta mesma época, estudos indicaram que era necessária uma concentração mínima de eletrólitos para a manutenção da estrutura de dupla hélice do DNA.^{c,12} Beer e Moudrianakis sugeriram que metais com especificidade para interagir com as nucleobases podem ser úteis na obtenção de moléculas constituídas de fita simples de DNA e RNA.¹³

Dados experimentais contribuem para o esclarecimento sobre a interação dos cátions com os sistemas biológicos, indicando possíveis sítios de interação, interferências nas estruturas conformacionais, alterações em propriedades físico-químicas, participação em processos catalíticos, entre outros. Contudo, uma das limitações das técnicas experimentais é sua inabilidade na descrição da energética dessas interações. Assim, estudos utilizando técnicas teóricas se tornam ferramentas disponíveis e fundamentais para esta investigação.

O uso de métodos da química quântica para estudar as interações de íons metálicos com nucleobases e nucleotídeos era, até a década de 80, limitado por falta de disponibilidade computacional de *software* e, mais fortemente, de *hardware*. Portanto, a maioria dos estudos *ab initio*, anterior à década de 90, sofreu sérias limitações impostas pelos recursos computacionais e programas disponíveis. Estas limitações incluíam, entre outras, o uso de conjunto de base mínimo dos AOs (*atomic orbitals*, AOs) e a não consideração do efeito de correlação eletrônica.

Recentes avanços em química computacional, tanto de capacidade computacional quanto de desenvolvimento de programas, têm permitido o melhoramento do nível de cálculos *ab initio*. Sponer e colaboradores¹⁴ estudaram as interações entre diferentes cátions e as nucleobases, pares de nucleobases e

^c A estrutura do DNA, determinada por James Watson e Francis Crick, em 1953,¹¹ é constituída por duas fitas antiparalelas e complementares. As fitas opostas se mantêm associadas, através de pontes de hidrogênio, pelo pareamento específico das bases: adenina-timina e citosina-guanina.

nucleotídeos. Em seu primeiro trabalho sobre o assunto, investigaram as interações de vários cátions metálicos mono e divalentes (Li^+ , Na^+ , K^+ , Rb^+ , Cs^+ , Cu^+ , Ag^+ , Au^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} e Hg^{2+}) com os sítios de interação N7, da adenina, e N7 e O6, da guanina (Figura 1). Os resultados mostraram que: i) os complexos cátion-guanina eram os mais estáveis; ii) as maiores forças de ligação eram encontradas nos complexos formados pelo cátions do grupo IIb (Zn^{2+} , Cd^{2+} e Hg^{2+}); iii) e que efeitos relativísticos são importantes para Au^+ e Hg^{2+} .¹⁴ Em outro trabalho, o grupo investigou a interação dos pares de nucleobases Watson-Crick, adenina-timina (AT) e guanina-citosina (GC), com os íons dos metais alcalinos terrosos, do grupo do zinco e Cu^+ , Ag^+ e Au^+ . A coordenação dos cátions com os pares de nucleobases foi feita através dos átomos N7 da adenina, e N7 e O6, da guanina. Os resultados indicaram que a coordenação com os cátions metálicos aumenta a estabilização dos pares de nucleobases, e que este efeito é mais pronunciado se o íon for um dicátion. O trabalho também avaliou a natureza não aditiva dessas interações e o efeito de transferência de carga e polarização, causados pela coordenação com o metal.¹⁵

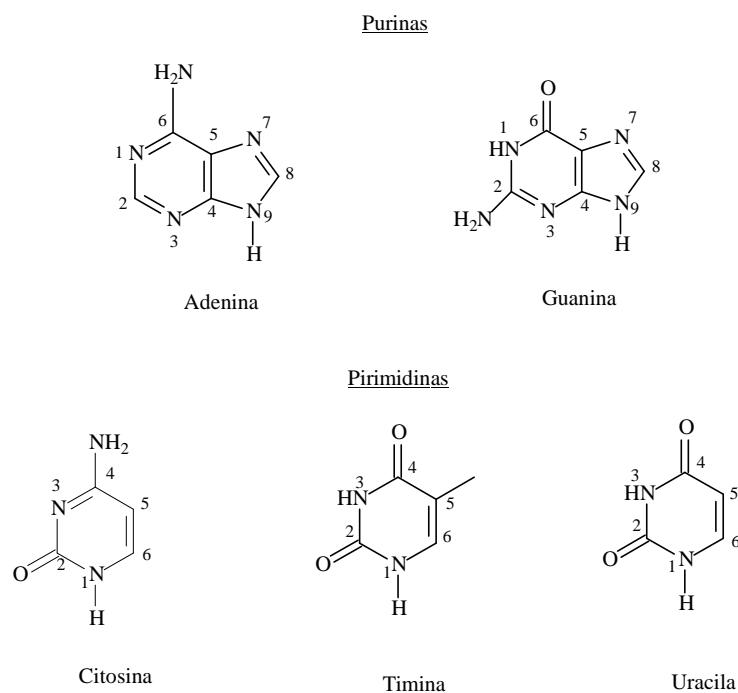


Figura 1 - Bases nucleotídicas purínicas e pirimidínicas do DNA (adenina, timina, citosina e guanina) e do RNA (adenina, uracila, citosina e guanina). Os números se referem ao rótulo do átomo que é usado na literatura.

Alguns trabalhos têm sido feitos com o intuito de investigar o efeito de solvatação de sistemas metal-nucleobases e metal-nucleotídeos. O estudo da

interação do par de nucleobases guanina-citosina de Watson-Crick (GC WC) com cátions metálicos divalentes hidratados (Mg^{2+} , Ca^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} e Hg^{2+}) foi realizado pelo grupo de Sponer. De acordo com os resultados obtidos, a energia de interação do cátion metálico com a guanina, mesmo reduzida em torno de 50%, ainda permanece significativa, e um aumento de cerca de 20-30 % na estabilidade do par de nucleobases é observado. Além disso, no sistema hidratado, o Zn^{2+} está ligado mais fortemente à nucleobase, se comparado com Mg^{2+} , e a camada de hidratação em torno do Zn^{2+} é mais flexível.¹⁶ Em uma avaliação da interação dos pares de nucleobases adenina-timina Watson-Crick (AT WC) e adenina-adenina Reverse-Hoogsteen^d (AA rH) com cátions hidratados (Mg^{2+} , Ca^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} e Hg^{2+}), verificou-se que a interação do cátion com o N7 da adenina não aumenta a estabilidade do par de nucleobases por efeito de polarização,¹⁷ resultado totalmente contrário ao obtido para os pares de nucleobases GG e GC.¹⁶

A investigação da energia e estrutura dos sistemas citosina-metal-adenina e citosina-metal($1H_2O$)-adenina, sendo o metal Cu^+ , Ag^+ ou Au^+ , revelou que as mudanças estruturais mais significativas são devidas às contribuições da interação metal-nucleobases, enquanto as contribuições água-metal-nucleobases são menos importantes.¹⁸ Cátions metálicos hidratados (Mg^{2+} e Zn^{2+}), interagindo com o N7 das purinas em nucleotídeos, mostraram que as moléculas de água na camada de hidratação são altamente polarizadas, formando uma ponte de água entre o cátion e os oxigênios do grupo fosfato. Apesar da blindagem dos efeitos eletrostáticos associados com a carga do metal, imposta pelas moléculas de água, a estrutura geométrica do esqueleto açúcar-fosfato pode ser afetada pelo cátion.¹⁹ A avaliação da interação do Mg^{2+} hidratado com nucleobases, pares de nucleobases e nucleotídeos, revelou um importante papel da água de hidratação na modulação da interação do cátion, através de uma rede específica de ligação de hidrogênio com as purinas e o grupo fosfato.²⁰ O estudo da interação de nucleotídeo com os íons Mg^{2+} e Zn^{2+} hidratados mostraram que os complexos com Zn^{2+} são mais estáveis que os complexos com Mg^{2+} ; esta maior estabilidade é favorecida pelos termos de dispersão e transferência de carga, enquanto a soma dos termos eletrostáticos e de repulsão de curto alcance favorece a estabilidade dos complexos de Mg^{2+} .²¹ As interações dos

^d No pareamento de bases de Hoogsteen, o acceptor de elétrons da adenina é o nitrogênio N7, ao invés do usual N1, de Watson-Crick. No Hoogsteen invertido (reverse Hoogsteen), um nucleotídeo sofre uma rotação de 180 °C em relação ao seu nucleotídeo complementar.¹

cátions metálicos Mg^{2+} e Zn^{2+} com os sítios N7 e O6 da guanina mostraram que as diferenças nas estruturas eletrônicas destes complexos resultam em funções biológicas diferentes para cada metal.²²

Famulari e colaboradores^{23,24} mostraram que a coordenação de cátions do grupo Ia e IIa com os sítios N7 e O6, do par de nucleobases guanina-citosina (GC WC), pode gerar ligações de hidrogênio não Watson-Crick, altamente distorcidas. Verificou-se, ainda, que a eliminação *a priori* do erro de superposição de base, BSSE (*basis set superposition error*, BSSE) (discutido no capítulo 2), permite o estudo molecular destes sistemas empregando pequenos conjuntos de base.²³ Os mesmos resultados foram observados para o cátion Mg^{2+} hidratado com 4 e 5 moléculas de água.²⁴

Russo e colaboradores^{25,26} utilizaram diferentes tautômeros das nucleobases para avaliar a afinidade pelos íons Li^+ , Na^+ e K^+ . Os resultados mostraram que os valores das energias de interação, para uma mesma nucleobase, são muito diferentes para cada tautômero, e são fortemente dependentes do modo de coordenação do metal com o isômero. Observaram também que apenas um tautômero, para cada nucleobase, apresenta valor de afinidade pelo cátion que corresponde ao valor experimental, e este não é, necessariamente, o mais estável.^{25,26} Estudos da afinidade dos íons Mg^{2+} e Ca^{2+} pelos tautômeros das nucleobases, utilizando-se o híbrido B3LYP, foram realizados pelo mesmo grupo. Os resultados indicaram uma maior afinidade do Mg^{2+} pelas nucleobases.²⁷

1.2 Justificativa

Embora cátions metálicos divalentes sejam importantes na formação e manutenção de estruturas tridimensionais complexas, importantes no reconhecimento molecular e na ação enzimática dos ácidos nucleicos, ainda não se sabe se o seu papel nestes processos é funcional, estrutural ou ambos.

Devido ao tamanho dos sistemas biológicos envolvidos, as ferramentas teóricas mais largamente utilizadas, no estudo de ácidos nucleicos, são aquelas baseadas em aproximações de mecânica molecular, especialmente Dinâmica Molecular (DM).²⁸ Moléculas de DNA e RNA são, atualmente, estudadas por dinâmica molecular com a inclusão explícita de solvente e íons.²⁹ Dentre estes estudos, pode-se citar a caracterização das interações de cátions nas cavidades do B-DNA,³⁰ a estabilização, por cátions metálicos, de estruturas quadruplexes de guanina³¹ e o papel do Mg^{2+} no sítio de interação da ribozima *Hammerhead*.³² Entretanto, os potenciais empíricos atualmente usados em simulações de DM e de Monte Carlo³³ são substancialmente deficientes em sua habilidade para descrever interações entre cátions metálicos e ácidos nucleicos, pois não conseguem descrever muitas características importantes destes complexos. As equações matemáticas em que são baseadas os campos de força consideram as interações eletrostáticas, mas não incluem as contribuições eletrônicas e, portanto, não fornecem uma descrição completa das interações entre cátions e ácidos nucleicos, nas quais o efeito de polarização, transferência de cargas e outros efeitos de orbital molecular são muito importantes.^{15,16} Além disso, os campos de Força atuais tratam os íons metálicos como cargas pontuais, não sendo capazes de diferenciar, por exemplo, a natureza das interações de cátions de metais alcalinos terrosos e cátions de metais de transição. Assim, métodos baseados em mecânica quântica, nos quais estes efeitos estão incluídos, são capazes de descrever as interações de cátions metálicos com nucleobases, pares de nucleobases e nucleotídeos mais adequadamente. No entanto, cálculos *ab initio* ainda são altamente restritivos quanto ao tamanho do sistema, e poucas dezenas de átomos são permitidas.

A despeito do grande custo computacional, o uso dos métodos quânticos para estudar as interações de íons metálicos com nucleobases e pares de nucleobase tem

aumentado na última década, devido ao aumento na capacidade computacional e ao desenvolvimento de programas mais eficientes. Assim, cálculos *ab initio* de alto nível têm sido usados para investigar as interações entre cátions e os constituintes dos ácidos nucleicos. Estes cálculos têm contribuído para melhorar o entendimento das interações entre cátions metálicos e nucleobases. Além disso, também são importantes na parametrização e validação de campos de força. Todos estes fatos mostram a importância de estudos *ab initio* de alto nível de teoria para as interações entre íons metálicos e as nucleobases.

Neste trabalho, a escolha do íon Mg^{2+} na interação com os componentes dos ácidos nucleicos foi feita com base na participação deste cátion em vários processos metabólicos importantes envolvendo os ácidos nucleicos;^{4,34} além disso, a importância biológica do magnésio resulta em uma maior disponibilidade de dados experimentais sobre as interações do íon com as moléculas de DNA e RNA. As informações obtidas com o estudo deste sistema servirão como ponto de partida para avaliação de outros íons importantes em processos metabólicos, como o Zn^{2+} .

1.3 Objetivos

O propósito deste trabalho é identificar os fatores que devam ser considerados na energética da interação Mg^{2+} -nucleobase para dois ambientes iônicos distintos: o cátion ligado diretamente ao sítio de interação na nucleobase e o cátion hidratado interagindo com o sítio ativo. Assim, as limitações referentes ao modelo de interação presentes nos campos de força se tornarão mais evidentes e poderão ser avaliadas. Além disso, os dados poderão ser usados para a validação e parametrização de campo de força.

Capítulo 2

Fundamentos teóricos

2.1 Introdução

O estudo de sistemas atômicos e moleculares, com o objetivo de oferecer uma descrição compreensível e previsível de seus diferentes estados energéticos e de suas propriedades, está diretamente relacionado com a distribuição e o comportamento de suas partículas constituintes e da interação entre elas.

A natureza dos métodos baseados na mecânica clássica não nos permite uma compreensão adequada das interações que ocorrem nestes sistemas, uma vez que tais métodos são, por princípio, deficientes na descrição do comportamento de núcleos e elétrons. A compreensão dos fenômenos relacionados às interações que ocorrem no nível atômico depende das descrições provenientes da mecânica quântica.

Este capítulo, apresenta uma breve descrição dos métodos utilizados neste trabalho, com ênfase em seus princípios fundamentais. As referências indicadas oferecem ao leitor interessado um estudo mais detalhado do assunto.

2.2 Métodos quânticos

Atualmente, um dos maiores objetivos da mecânica quântica é a descrição confiável dos sistemas moleculares. O problema molecular consiste na descrição e solução de um sistema formado por núcleos e elétrons. Qualquer estado de tal sistema pode ser descrito por uma função de onda Ψ , em função das três coordenadas espaciais e do tempo:

$$\Psi = \Psi(x_1, y_1, z_1, x_2, y_2, z_2, x_n, y_n, z_n, t) \quad (01)$$

As propriedades físicas de um sistema, representadas por uma função de onda Ψ , são determinadas usando uma descrição matemática onde um *operador*, que caracteriza uma dada propriedade, atua sobre a função de onda do sistema.

Os operadores que representam propriedades físicas de um sistema são operadores lineares, chamados de *hermitianos*. Um operador hermitiano que permite obter informações sobre a energia do sistema é conhecido como operador *hamiltoniano*, e é representado por H.

Para um sistema formado por M núcleos e N elétrons, o hamiltoniano, em unidades atômicas, é:

$$H = -\sum_{i=1}^n \frac{1}{2} \nabla_i^2 - \sum_{A=1}^M \frac{1}{2M_A} \nabla_A^2 - \sum_{i=1}^n \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum_{i=1}^n \sum_{j>i}^n \frac{1}{r_{ij}} + \sum_{A=1}^M \sum_{B>A}^M \frac{Z_A Z_B}{R_{AB}} \quad (02)$$

sendo M_A a razão entre a massa de um núcleo A e um elétron, e Z_A o número atômico do núcleo A .

Na ordem em que estão apresentados na equação, os termos se referem à energia cinética dos elétrons, à energia cinética dos núcleos, à atração coulômbica entre núcleos e elétrons, à repulsão coulômbica entre elétrons e à repulsão coulômbica entre núcleos.

Alternativamente, o hamiltoniano pode ser escrito, resumidamente, como:

$$H = T_e + T_N + V_{Ne} + V_{ee} + V_{NN} \quad (03)$$

onde,

$$T_e = -\sum_{i=1}^n \frac{1}{2} \nabla_i^2 \quad (04)$$

$$T_N = -\sum_{A=1}^M \frac{1}{2M_A} \nabla_A^2 \quad (05)$$

$$V_{Ne} = -\sum_{i=1}^n \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{r_{iA}} \quad (06)$$

$$V_{ee} = \sum_{i=1}^n \sum_{j>i}^n \frac{1}{r_{ij}} \quad (07)$$

$$V_{NN} = \sum_{A=1}^M \sum_{B>A}^M \frac{Z_A Z_B}{R_{AB}} \quad (08)$$

A descrição matemática que relaciona a função de onda Ψ , que descreve o estado do sistema, com o operador hamiltoniano, que representa a propriedades que se quer conhecer, é a equação de Schrödinger.³⁵ Na sua forma independente do tempo e não relativística, essa equação é escrita na forma:

$$H\Psi = E\Psi \quad (09)$$

Como estamos interessados em descrever o estado estacionário de um sistema, a equação (09) assume a forma:

$$H(r, R)\Psi(r, R) \cong E\Psi(r, R) \quad (10)$$

onde r representa as coordenadas dos elétrons, R , as coordenadas dos núcleos, H , o operador hamiltoniano e Ψ , a sua função de onda.

A solução exata da equação de Schrödinger fornece a função de onda e a energia total do sistema. Entretanto, a solução exata só é possível para sistemas monoelétrônicos. No entanto, uma grande parte dos sistemas usualmente estudados é constituída de sistemas polieletrônicos, para os quais a solução da equação (10) só pode ser determinada de forma aproximada e utilizando métodos numéricos.

Uma das dificuldades encontradas para a resolução da equação (10) é o acoplamento entre o movimento nuclear e o eletrônico. Assim, uma primeira aproximação consiste em assumir que a equação de Schrödinger possa ser separada em uma parte eletrônica e outra nuclear. Esta simplificação é baseada na idéia de que em um sistema multieletrônico, os elétrons, que possuem massa muito menor que a dos núcleos, movem-se rapidamente através de um campo gerado por núcleos fixos. Dentro dessa aproximação, o segundo termo do hamiltoniano (2), associado à energia cinética dos núcleos, pode ser desconsiderado, enquanto o último termo, que representa a repulsão entre os núcleos, é considerado constante. Dessa forma os termos restantes descrevem o movimento dos elétrons em um campo com cargas pontuais fixas, os núcleos.

Assim, a função de onda Ψ pode ser escrita como um produto em que um dos fatores tenha uma fraca dependência das coordenadas nucleares:

$$\Psi(r, R) \cong y(r; R)f(R) \quad (11)$$

onde $y(r; R)$ descreve o movimento dos elétrons e depende explicitamente de suas coordenadas, mas cuja dependência das coordenadas dos núcleos é paramétrica, e

$f(R)$ representa a função de onda nuclear. Essas funções de onda podem ser determinadas resolvendo-se as equações (12) e (13):

$$H_{el}(r, R)\mathbf{y}_{el}(r; R) = E_{el}(r, R)\mathbf{y}_{el}(r; R) \quad (12)$$

$$H_n(R)\mathbf{f}_n(R) = E_n\mathbf{f}_n(R) \quad (13)$$

sendo os hamiltonianos eletrônico e nuclear escritos na forma:

$$H_{el}(r, R) = T_e + V_{Ne} + V_{ee} + V_{NN} \quad (14)$$

$$H_n = T_N + V_{NN} \quad (15)$$

Para um conjunto de valores fixos de R (R_1, R_2, R_3, \dots), a resolução da equação (12) fornece uma superfície de potencial para a energia eletrônica $E_{el}(r, R)$.

A separação do hamiltoniano em duas partes distintas, uma eletrônica e outra nuclear, é conhecida como *aproximação de Born-Oppenheimer*. Esta aproximação permite a obtenção de informações sobre as energias de sistemas multieletrônicos em uma geometria nuclear de equilíbrio, uma vez que os elétrons, possuindo menos inércia, podem ajustar seus movimentos, quase que instantaneamente, a qualquer rearranjo das posições nucleares.

2.2.1 A aproximação Hartree-Fock

Uma vez feita a separação dos movimentos eletrônicos e nucleares, encontrar a solução para a parte eletrônica da equação de Schrödinger tem sido o grande desafio da química quântica. A função de onda eletrônica $\mathbf{y}_{el}(r; R)$ é dependente das coordenadas de todos os elétrons, e o problema está associado com a interação intereletrônica.

Em 1928, Hartree sugeriu que a equação de Schrödinger eletrônica poderia ser resolvida se o termo de interação eletrônica, equação (7), fosse subdividido em termos de componentes monoelétrônicos.³⁶ Assim, para um sistema possuindo um número qualquer de elétrons, a energia eletrônica de repulsão do i -ésimo elétron, em relação a todos os outros, é dada por

$$n_i(ee) = \sum_{j \neq i} \int \frac{f_j^* f_j}{r_{ij}} dr_j \quad (16)$$

e a solução da equação de Schrödinger para um sistema com N elétrons seria dada por um conjunto de equações monoelétrônicas do tipo

$$(t_i + \sum_{A=1}^N v_{Ai}(Ne) + v_i(ee))f_i = e_i f_i \quad (17)$$

onde t_i representa a energia cinética do i -ésimo elétron, $v_{Ai}(Ne)$, a atração de todos os núcleos pelo i -ésimo elétron e $v_i(ee)$, o termo de repulsão eletrônico efetivo do i -ésimo elétron. As funções f_i são chamadas de função orbital, e representam a função monoelétrica do i -ésimo elétron com energia e_i .

A função de onda total $y_{el}(r; R)$ é escrita como um produto de n funções de um elétron f_i , que descreve um elétron como sendo completamente independente de todos os outros, e a energia eletrônica total do sistema é dada pela soma das energias de cada elétron

$$y(1,2,3,\dots,n) = f_1(1)f_2(2)f_3(3)\dots f_n(n) \quad (18)$$

$$E = e_1 + e_2 + e_3 + \dots + e_n \quad (19)$$

A função de onda apresentada como na equação (18) é chamada de *produto de Hartree*, ou *método do campo autoconsistente*, uma vez que se obtém a função de onda de um elétron através de um procedimento iterativo. Neste procedimento, utiliza-se, inicialmente, um conjunto de funções aproximadas para se encontrar a solução da equação (17); em seguida, o resultado obtido é utilizado como função tentativa para

se obter novas soluções, e assim sucessivamente, até que não sejam observadas mudanças apreciáveis nas funções, de uma interação para a próxima.

Entretanto, a função de onda no método de Hartree (18) é apenas um produto de funções orbitais, no qual duas características importantes não estão sendo contempladas: a indistinguibilidade eletrônica e a anti-simetria com relação à troca de elétrons de um orbital para outro. Portanto, uma função de onda válida deve ser escrita considerando-se explicitamente o spin eletrônico e ser anti-simétrica, com respeito a qualquer troca de coordenadas dos elétrons, isto é:

$$\mathbf{y}_{el}(r_1, r_2, \dots, r_i, \dots, r_k, \dots; R) = -\mathbf{y}_{el}(r_1, r_2, \dots, r_k, \dots, r_i, \dots; R) \quad (20)$$

Em 1930, Fock e Slater chamaram a atenção para este fato e propuseram que uma função de onda que satisfizesse estas exigências deveria ser escrita como um determinante, onde cada elemento é um spin-orbital.

Desta forma, um conjunto de funções convenientes é o conjunto de *determinantes de Slater*. Estes determinantes são formados por um conjunto completo de spin-orbital $\mathbf{j}_i(j; R)$, de acordo com a equação:

$$\mathbf{y}_{el}(1, 2, \dots, N; R) = \frac{1}{\sqrt{N!}} \begin{vmatrix} \mathbf{j}_a(1; R) & \mathbf{j}_b(1; R) & \dots & \mathbf{j}_n(1; R) \\ \mathbf{j}_a(2; R) & \mathbf{j}_b(2; R) & \dots & \mathbf{j}_n(2; R) \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \mathbf{j}_a(N; R) & \mathbf{j}_b(N; R) & \dots & \mathbf{j}_n(N; R) \end{vmatrix} \quad (21)$$

sendo N é o número de elétrons do sistema e $\mathbf{j}_i(j; R)$, o orbital de spin do elétron i.

Assim, a determinação de N funções de um elétron pode ser feita através do uso das equações de Hartree-Fock,

$$F(1)\mathbf{j}_i(1; R) = \mathbf{e}\mathbf{j}_i(1; R) \quad (22)$$

onde F é o operador de Fock, um operador monoelétrônico definido pela equação

$$F(1) = h(1) + \sum_{\ell} J_{\ell}(1) + K_{\ell}(1) \quad (23)$$

sendo

$$\mathbf{n}^{HF}(1) = \sum_{\ell} [J_{\ell}(1) - K_{\ell}(1)] \quad (24)$$

$$J_{\ell}(1)\mathbf{j}_i = \left[\int \mathbf{j}_{\ell}^*(2) \frac{1}{r_{12}} \mathbf{j}_{\ell}(2) dr_2 \right] \mathbf{j}_i \quad (25)$$

$$K_{\ell}(1)\mathbf{j}_i = \left[\int \mathbf{j}_{\ell}^*(2) \frac{1}{r_{12}} \mathbf{j}_{\ell}(2) dr_2 \right] \mathbf{j}_{\ell} \quad (26)$$

com $\mathbf{n}^{HF}(1)$ sendo o potencial Hartree-Fock, $J_{\ell}(1)$, o operador de coulomb e $K_{\ell}(1)$, o operador de Troca. Deve-se observar que, com o uso das funções de onda anti-simétricas, o termo de repulsão eletrônica passa a apresentar um componente de natureza coulômbica, o *operador de coulomb*, e outro de natureza quântica, o *operador de troca*. A soma envolvendo os operadores de coulomb e de troca representa a aproximação para o comportamento de um elétron sob a ação gerada pelos outros elétrons.

Para resolver as equações de Hartree-Fock, usa-se a aproximação LCAO (*linear combination of atomic orbitals*, LCAO)³⁷ e o método do campo auto-consistente (*self consistent field*, SCF).³⁸

No método SCF, a equação de Hartree-Fock (22), é resolvida a partir de um conjunto de orbital de spin $\mathbf{j}_i^{(0)}$, previamente escolhido. Esta solução fornece um novo conjunto de orbitais de spin $\mathbf{j}_i^{(1)}$, os quais são usados novamente na equação (22), fornecendo novos orbitais de spin $\mathbf{j}_i^{(2)}$, e assim sucessivamente, até que seja encontrada uma convergência na densidade eletrônica e na energia do sistema.

Inicialmente, os cálculos HF eram feitos utilizando-se uma integração numérica e, portanto, tornava-se inadequado para sistemas moleculares, por limitação computacional. A aproximação LCAO permite uma resolução mais rápida da equação de Hartree-Fock. Nesta aproximação, Roothaan³⁷ sugeriu que as funções que

representassem os orbitais moleculares fossem obtidas a partir de funções que representassem os orbitais atômicos. Assim, cada função de um elétron (spin-orbital) é expandida como um conjunto de funções conhecidas, denominadas funções de base

$$\mathbf{f}_i = \sum_{i=1}^N c_i \mathbf{c}_i \quad (27)$$

onde c_i é chamado de *funções de base* e c_i corresponde ao coeficiente de combinação linear de N funções de base. O conjunto de N funções de base é denominado *conjunto de base*.

Com essa aproximação, a resolução da equação de Hartree-Fock fornece resultados tão próximos da solução exata, neste nível de cálculo, quanto maior for o conjunto de base, ou seja, quanto maior for o número de funções de base, e atinge o limite Hartree-Fock antes do conjunto chegar a sua completude.

Após um processo de minimização da energia, com orbitais ortonormais, pode-se obter a equação canônica de Hartree-Fock

$$F(1)\mathbf{f}_i = \mathbf{e}_i \mathbf{f}_i(1) \quad (28)$$

uma equação de autovalor que determina \mathbf{f}_i , sendo \mathbf{e}_i a energia do orbital \mathbf{f}_i , que pode ser expressa com o uso da notação de *bras* e *kets* na forma:

$$\mathbf{e}_i = \langle \mathbf{f}_i | F | \mathbf{f}_i \rangle = \langle \mathbf{f}_i | h | \mathbf{f}_i \rangle + \sum_j \langle \mathbf{f}_i \mathbf{f}_j | | \mathbf{f}_i \mathbf{f}_j \rangle \quad (29)$$

Assim, a energia SCF total, em termos das energias orbitais, é:

$$E_{SCF} = \sum_i \mathbf{e}_i - \frac{1}{2} \sum_{i,j} \langle \mathbf{f}_i \mathbf{f}_j | | \mathbf{f}_i \mathbf{f}_j \rangle \quad (30)$$

É preciso salientar que a energia HF não é a soma das energias de uma partícula, pois a repulsão eletrônica é contada duas vezes, daí a presença do termo negativo.

2.2.2 Funções de base e superposição de base

Funções de base

A escolha de um conjunto de base adequado para representar os orbitais em cálculos quânticos é fundamental para que os resultados obtidos sejam confiáveis.

Um dos primeiros conjuntos de base usados com sucesso é conhecido como *orbitais tipo slater*,^{39,40} composto de funções de base centradas nos núcleos. Estas funções apresentam, em sua expressão matemática, um decaimento exponencial do tipo e^{-zr} , sendo r a distância ao núcleo e z , um parâmetro ajustável e função de algum critério predeterminado, como por exemplo, a energia mínima. No entanto, funções tipo Slater são usualmente substituídas por *funções tipo gaussianas*,⁴¹ que permitem uma resolução analítica e mais rápida das integrais de energia que aparecem na equação de Hartree-Fock. A diferença é que, nas gaussianas, o decaimento exponencial decai com o quadrado da distância ao núcleo, e^{-zr^2} .

As funções de base foram desenvolvidas para sistemas atômicos e adaptadas para o uso em cálculos realizados em moléculas. No entanto, o conjunto de base desenvolvido em ambiente atômico não leva em consideração distorções da nuvem eletrônica, característica de sistemas multicêntricos. Assim, funções extras são adicionadas à função de base original para contornar esse problema e descrever, mais adequadamente, a distribuição eletrônica no ambiente molecular: as *funções de polarização*, simbolizadas pela letra P, ou por um asterisco (*), no final do nome da base; e as *funções difusas*, simbolizadas por um sinal de mais (+) no meio do nome da base.

As funções de polarização possuem momento angular diferente do apresentado pela função de base original, e contribuem para a descrição das distorções da nuvem eletrônica. As funções difusas levam expoentes que descrevem mais adequadamente a região de valência, permitindo uma melhor expansão dessa região se elétrons são adicionados ao sistema, ou se o átomo possui pares de elétrons livres

Em nosso trabalho, utilizamos dois conjuntos de base distintos, 6-31+G* e 6-311++G(2d,2p). Estes conjuntos de base são compostos de uma contração de seis

gaussianas primitivas, que descrevem os orbitais das camadas internas, e uma combinação linear de 2 ou 3 gaussianas, para representar os orbitais de valência. Além das funções de bases primitivas, adicionou-se, no primeiro conjunto de base, uma função difusa e um conjunto de seis funções de polarização de simetria d nos átomos mais pesados. O conjunto de base 6-311++G(2d,2p), além de possuir mais uma gaussiana primitiva para descrever elétrons das camadas de valência, foi acrescido: de uma função difusa, para átomos pesados, e outra para os hidrogênios, além de dois conjuntos de funções de polarização de simetria d e p, para átomos pesados e hidrogênio, respectivamente. Por "contração de gaussianas" entende-se uma combinação linear de gaussianas (6 ou 3 nas bases acima mencionadas), cujos coeficientes são pré-fixados, em geral obtidos por comparação com resultados exatos em átomos isolados. Por outro lado, os coeficientes lineares para elétrons de valência nas combinações das funções 31 e 311 acima são ajustados durante o procedimento SCF, conferindo flexibilidade aos orbitais atômicos para se ajustar aos diversos ambientes moleculares da melhor forma possível, i.e., de maneira a diminuir a energia do sistema.

Superposição de base

A energia de interação, (ΔE), de um complexo molecular pode ser determinada como a diferença entre a energia do complexo (E) e a energia dos subsistemas isolados, que formam o complexo:

$$\Delta E = E - \sum E_i$$

onde E_i é a energia do i -ésimo subsistema. Normalmente, os valores de E e $\sum E_i$, diferem por vários kcal mol⁻¹, sendo E mais negativa do que $\sum E_i$.

O tratamento quântico, envolvendo cálculos da energia de interação em complexos, é passível de erros se o conjunto de base usado for finito. Primeiro, pela limitação imposta às funções de onda, que pode ser diferente em termos relativos para os subsistemas (fragmentos ou moléculas individuais) envolvidos na interação. Segundo, devido ao *overlap* das funções de bases, que ocorre quando os fragmentos que compõem o aglomerado se aproximam, e que irá depender tanto da natureza dos

subsistemas envolvidos, quanto da maneira como eles se aproximam (orientação e distância). Assim, a base utilizada para descrever o aglomerado é maior do que as bases utilizadas para cada fragmento isolado. Com isso, o aglomerado, tendo uma base mais completa, pode alcançar uma energia de estabilização mais negativa do que a esperada, gerando o efeito de cálculo conhecido como erro de superposição de bases, BSSE (*basis set superposition error, BSSE*).^{42,43}

Uma maneira de eliminar ou minimizar o BSSE consiste na adição de funções ao conjunto de base até não mais se observar mudanças apreciáveis nas energias de interações entre os fragmentos. Esta escolha envolve a avaliação dos recursos computacionais disponíveis. Outra forma de eliminar esse problema, ou pelo menos de estimar sua magnitude, é utilizar métodos que possam corrigir os efeitos BSSE. Um dos métodos mais comumente utilizados para corrigir estes efeitos é chamado de *correção de counterpoise, (counterpoise approach, CP)*.⁴⁴

Para ilustrar este método, vamos considerar dois fragmentos, A e B, descritos pelos conjuntos de base a e b, que interagem para formar o complexo AB. O método propõe o cálculo da energia dos fragmentos A e B com o mesmo conjunto de base utilizado para calcular a energia do complexo; ou seja, cada fragmento terá, além de seus orbitais, os orbitais relativos ao outro fragmento, embora os átomos que a eles se referem não estejam presentes.

Então, para o complexo AB, com os dois fragmentos A e B interagindo, a energia de interação CP corrigida é dada por

$$\begin{aligned}\Delta E^{CP}(AB) &= [E_{AB}^{ab}(AB) - E_{AB}^{ab}(A) - E_{AB}^{ab}(B)] + [E_{AB}^a(A) + E_{AB}^b(B) - E_A^a(A) - E_B^b(B)] \quad (31) \\ &= [E_{AB}^{ab}(AB) - E_A^a(A) - E_B^b(B)] + [E_{AB}^a(A) + E_{AB}^b(B) - E_{AB}^{ab}(A) - E_{AB}^{ab}(B)] \\ &= \Delta E(AB) + \mathbf{d}_{AB}^{BSSE}\end{aligned}$$

onde $E_y^x(Z)$ é definido como a energia do sistema Z, na geometria Y, com o conjunto de base X.

2.2.3 Correlação eletrônica

Os resultados obtidos com o método Hartree-Fock incluem a maior parte da energia eletrônica de um sistema, e representam o melhor resultado que se pode obter a partir de um único determinante. Entretanto, uma pequena parte da energia total é desconsiderada. Isto porque uma das aproximações utilizadas no método HF é a de que uma partícula se movimenta em um campo médio gerado pelos núcleos e pelos demais elétrons. Esta aproximação faz com que se perca informação detalhada a respeito da interação causada pelo movimento correlacionado dos elétrons. Portanto, essa pequena parte da energia total do sistema corresponde à *energia de correlação eletrônica*.

Define-se, então, a energia de correlação eletrônica como a diferença entre a energia exata não relativística (o melhor resultado teórico) e a energia obtida no limite HF:

$$E_{corr} = E_{exata} - E_{HF} \quad (32)$$

Esta contribuição na energia é importante para a descrição detalhada de propriedades que sejam mais sensíveis à qualidade da função de onda, como propriedades que envolvem diferença de energia, polarizabilidade, momento dipolar, etc.

Diante da importância de se determinar sistematicamente a energia de correlação, diferentes métodos, que consideram esse efeito em suas estratégias de cálculos, têm sido desenvolvidos. Descreveremos a seguir, alguns desses métodos que utilizamos em nosso trabalho. O primeiro, baseado na teoria de perturbação de Rayleigh e Schrodinger e o segundo, *coupled cluster* (CC); ambos são métodos não variacionais porém, satisfazem a propriedade de extensividade, os outros três, baseados na teoria do funcional de densidade (B3LYP, B3PW91 e BP), são variacionais e extensivos.

2.2.4 Teoria da Perturbação

Dentre as aproximações que permitem obter a energia de correlação eletrônica, a Teoria de Perturbação Eletrônica de Rayleigh e Schrödinger^e (*Rayleigh-Schrödinger Perturbation Theory*, RSPT) era uma das mais usualmente empregadas na década de 80, antes de surgirem os métodos DFT híbridos e recursos computacionais mais potentes.

Na teoria da perturbação, o hamiltoniano total do sistema é dividido em duas partes

$$H = H_0 + IH' \quad (33)$$

onde H_0 é um hamiltoniano de referência e corresponde a um sistema para o qual se conhece a função de onda e H' representa uma pequena perturbação sofrida pelo sistema associado a H_0 , cujo efeito é uma pequena correção na solução encontrada com H_0 . O coeficiente I define a intensidade da perturbação representada por H' .

A equação de Schrödinger para esse sistema pode ser escrita como:

$$H\Psi_n = E_n\Psi_n \quad (34)$$

e, substituindo (33) em (34), obtém-se:

$$(H_0 + IH')\Psi_n = E_n\Psi_n \quad (35)$$

considerando-se $\Psi_n^{(0)}$, a função de onda do sistema não perturbado, e $E_n^{(0)}$, a energia correspondente, temos

$$H_0\Psi_n^{(0)} = E_n^{(0)}\Psi_n^{(0)} \quad (36)$$

Então, se todas $\Psi_n^{(0)}$ for conhecidas pode se calcular um valor aproximado para Ψ_n e E_n , supondo que Ψ_n e E_n possam ser expressas como:

$$\Psi_n = \Psi_n^{(0)} + I\Psi_n^{(1)} + I^2\Psi_n^{(2)} + I^3\Psi_n^{(3)} + \dots \quad (37)$$

^e Este assunto é extensivamente discutido em Szabo A. and Ostlund N. S.³⁸

$$E_n = E_n^{(0)} + \mathbf{I}E_n^{(1)} + \mathbf{I}^2E_n^{(2)} + \mathbf{I}^3E_n^{(3)} + \dots \quad (38)$$

onde $\Psi_n^{(1)}, \Psi_n^{(2)} \dots$ são correções de ordem 1,2... para a função de onda do sistema não perturbado, e $E_n^{(1)}, E_n^{(2)} \dots$ para a energia do sistema não perturbado.

Se a equação (35) for escrita na forma:

$$(H_0 + \mathbf{I}H')|\Psi_n\rangle = E_n|\Psi_n\rangle \quad (39)$$

e substituindo-se (37) e (38) em (39), obtemos

$$H_0|\Psi_n^{(0)}\rangle = E_n^{(0)}|\Psi_n^{(0)}\rangle \quad n=0 \quad (40)$$

$$H_0|\Psi_n^{(1)}\rangle + H'|\Psi_n^{(0)}\rangle = E_n^{(0)}|\Psi_n^{(1)}\rangle + E_n^{(1)}|\Psi_n^{(0)}\rangle \quad n=1 \quad (41)$$

$$H_0|\Psi_n^{(2)}\rangle + H'|\Psi_n^{(1)}\rangle = E_n^{(0)}|\Psi_n^{(2)}\rangle + E_n^{(1)}|\Psi_n^{(1)}\rangle + E_n^{(2)}|\Psi_n^{(0)}\rangle \quad n=2 \quad (42)$$

As expressões acima descrevem as correções de ordem 0, 1, 2, na energia Hartree-Fock. A primeira dessas equações é justamente a equação de Schrödinger para o sistema não perturbado.

No entanto, as funções de onda $\Psi_0^{(n)}$ não são únicas, e qualquer função do tipo $\tilde{\Psi}^{(n)} = \Psi_0^{(n)} + c\Psi_0^{(0)}$, com c arbitrário, será solução da equação (34). Assim, para que a solução seja única, utiliza-se a normalização intermediária $\langle \Psi_0^{(i)} | \Psi_0^{(0)} \rangle = \mathbf{d}_{i0}$, e assim obtêm-se as seguintes expressões para as correções na energia:

$$E_0^{(1)} = \langle \Psi_0^{(0)} | H' | \Psi_0^{(0)} \rangle \quad (43)$$

$$E_0^{(2)} = \langle \Psi_0^{(0)} | H' | \Psi_0^{(1)} \rangle \quad (44)$$

$$E_0^{(n+1)} = \langle \Psi_0^{(0)} | H' | \Psi_0^{(n)} \rangle \quad (45)$$

Portanto, para calcular a energia do sistema com correção de ordem $n+1$, basta determinar a função de onda com correções de ordem n .

Para determinar $\Psi_0^{(1)}$ e obter $E_0^{(2)}$, considera-se o fato de que o conjunto de funções de ondas obtidos como solução do problema não perturbado, $\{\Psi_n^{(0)}\}$, forma um conjunto completo. Então, $\Psi_0^{(1)}$ pode ser expressa como uma combinação linear de $\{\Psi_n^{(0)}\}$:

$$\Psi_0^{(1)} = \sum_n c_n \Psi_n^{(0)} \quad (46)$$

O coeficiente c_n pode ser obtido substituindo-se a equação (46) em (41), e multiplicando à esquerda por $\Psi_n^{(0)}$

$$c_n = \frac{\langle \Psi_n^{(0)} | H' | \Psi_0^{(0)} \rangle}{E_0^{(0)} - E_n^{(0)}} \quad (47)$$

Assim, a equação para a correção de primeira ordem na função de onda é:

$$\Psi_0^{(1)} = \sum_{n \neq 0} \frac{\langle \Psi_n^{(0)} | H' | \Psi_0^{(0)} \rangle}{E_0^{(0)} - E_n^{(0)}} \Psi_n^{(0)} \quad (48)$$

A expressão para a correção de segunda ordem para energia é dada por:

$$E_0^{(2)} = \frac{\left| \langle \Psi_n^{(0)} | H' | \Psi_0^{(0)} \rangle \right|^2}{E_0^{(0)} - E_n^{(0)}} \quad (49)$$

Uma vez estabelecidas as bases da RSPT, para que a equação (35) tenha solução exata é preciso fazer uma escolha adequada do hamiltoniano H_0 e da perturbação H' . A escolha do hamiltoniano Hartree-Fock como sendo o hamiltoniano não perturbado foi feita pela primeira vez por C. Moller e M. S. Plesset, em 1934.⁴⁵ Desde então, a sua aplicação é referida como *Teoria da Perturbação de Moller-Plesset*, MPn, onde n é a ordem na qual a perturbação é truncada.

Nesta aproximação, H_0 é considerado como a soma de operadores de Fock de um elétron

$$H_0 = \sum_{i=1}^N F(i) \quad (50)$$

sendo Ψ_0 uma função Hartee-Fock:

$$H_n^{(0)}\Psi_{HF}^{(0)} = \sum_i \mathbf{e}_i \Psi_{HF}^{(0)} \quad (51)$$

Assim, a perturbação é obtida da seguinte forma:

$$H' = \sum_i h_i + \sum_{i>j} \frac{1}{r_{ij}} - \sum_i F(i) \quad (52)$$

$$H' = \sum_{i>j} \frac{1}{r_{ij}} - \sum_i [J(i) - K(i)] \quad (53)$$

onde J e K correspondem, respectivamente, aos operadores de coulomb e de troca.

Como vimos anteriormente, a correção de primeira ordem na energia é dada por

$$E_0^{(1)} = \langle \Phi_0 | H' | \Phi_0 \rangle \quad (54)$$

e, assim, a energia MP1 será dada pela equação

$$E_0^{(1)} = \sum_i \mathbf{e}_i - \frac{1}{2} \sum_{i,j} \langle ij || ij \rangle = E_{SCF} \quad (55)$$

Isto é, a energia HF é a energia corrigida até a primeira ordem na teoria de perturbação Moller-Plesset. Assim, para se obter uma estimativa da energia de correlação, devemos avaliar a correção em segunda ordem,

$$E_0^{(2)} = \frac{\sum_{n \neq 0} \langle \Phi_n^{(0)} | H' | \Phi_0^{(0)} \rangle}{E_0^{(0)} - E_n^{(0)}} \quad (56)$$

Conforme o Teorema de Brillouin^{f,46} uma vez que as configurações monoexcitadas não interagem com o estado de referência, apenas as configurações duplamente excitadas contribuem para a soma em (57). As substituições triplas e superiores também não contribuem, pois H' contém apenas operadores de uma e duas partículas.

Então, a correção de segunda ordem na energia poderá ser escrita na forma:

$$E_0^{(2)} = \sum_{i<j, a<b} \frac{|\langle \Phi_0 | H' | \Phi_{ij}^{ab} \rangle|^2}{E_0^{(0)} - E_{ij}^{ab(0)}} \quad (57)$$

ou expressa na forma de Brandow⁴⁷

$$E_0^2 = \sum_{i>j, a>b} \frac{|\langle ij || ab \rangle|^2}{\mathbf{e}_i + \mathbf{e}_j + \mathbf{e}_a + \mathbf{e}_b} \quad (58)$$

2.2.5 Coupled Cluster

Um outro método utilizado neste trabalho para se obter a energia de correlação foi a aproximação *coupled cluster* (*coupled cluster approximation*, CCA), desenvolvida por Cizek.^{48,49}

A idéia central desta aproximação consiste em dividir um sistema com muitos elétrons em pequenos aglomerados com poucos elétrons, os *clusters*. Então, calculam-se as interações dos elétrons de um mesmo aglomerado e, em seguida, a interação entre os diversos aglomerados.

Nesta formulação, a função de onda pode ser escrita como:

$$|\Psi\rangle = e^T |\mathbf{f}\rangle \quad (59)$$

$$T = T_1 + T_2 + T_3 + \dots + T_n \quad (60)$$

^f Ver Szabo A. and Ostlund N. S., pág. 128.³⁸

onde T é chamado *operador de cluster* e n é o número total de elétrons. Os operadores T_i geram configurações com excitações i e podem ser assim definidos

$$T_1 = \sum_{i,a} c_i^a a_i \quad (61)$$

$$T_2 = \sum_{i,j,a,b} c_{ij}^{ab} a_{ij} \quad (62)$$

e assim por diante, até T_n . Na equação, c é a *amplitude de cluster* e é determinado de forma a satisfazer a equação (59). Nesta notação, i e j representam os orbitais ocupados e a e b , os orbitais desocupados. Os operadores a, b atuam como operadores de criação, enquanto i, j atuam como operadores de aniquilação.

Operando com T na função de onda Hartree-Fock, e considerando, por exemplo, as excitações duplas, isto é, $T = T^2$, em uma expansão de Taylor, a função exponencial (59) é dada por

$$|\Psi_{CCD}\rangle = e^T |\Psi_{HF}\rangle \quad (63)$$

$$|\Psi_{CCD}\rangle = (1 + T_2 + \frac{T_2^2}{2!} + \frac{T_2^3}{3!} + \dots) |\Psi_{HF}\rangle \quad (64)$$

onde CCD indica *coupled cluster* com os operadores de substituições duplas.

O problema a ser resolvido se refere à determinação das amplitudes de *cluster* c para todos os operadores considerados em uma descrição particular. As amplitudes de *cluster* devem ser tais que a função de onda seja uma solução da equação de Schrödinger

$$H e^{-T} |\Psi_{HF}\rangle = E e^{-T} |\Psi_{HF}\rangle \quad (65)$$

Uma forma de se resolver isto é multiplicar a esquerda da equação de Schrödinger por uma função expressa como determinante de orbitais HF, como e^{-T} . Este

procedimento gera um conjunto de *coupled*, equações não lineares, nas amplitudes com as quais devem ser resolvidas.

Uma vez determinadas as amplitudes de *cluster*, a energia *coupled cluster* é calculada por

$$E_{CC} = \langle \Psi_{HF} | H | e^{-T} \Psi_{HF} \rangle \quad (66)$$

Se, na equação (60), n for igual ao número de orbitais ocupados, a função de onda conterá todas as excitações possíveis, e a solução da equação (65) será exata. Porém, o custo computacional torna esse procedimento proibitivo e, portanto, o que usualmente se faz é a inclusão de operadores de *cluster* de ordens mais baixas.

Na prática, utilizam-se várias aproximações: a inclusão de apenas duplas excitações que definem o CCD, de simples e duplas, CCSD, e simples, duplas e triplas, o CCSDT. No entanto, o alto custo da inclusão de excitações triplas torna este método proibitivo, mesmo para moléculas relativamente pequenas. Uma das alternativas é a inclusão parcial das excitações triplas, CCSD(T).

2.2.6 Teoria do Funcional de Densidade

Os conceitos modernos da Teoria do Funcional de Densidade (*density functional theory*, DFT), formulados por Kohn e Sham,^{50,51} incluem efeitos de troca e correlação eletrônica para os cálculos quânticos. A grande vantagem desta metodologia, em relação aos métodos pós-Hartree-Fock, para o cálculo da correlação eletrônica, está no ganho em velocidade computacional e em espaço em memória.

O funcional utilizado pelo método DFT particiona a energia eletrônica em vários termos:

$$E = E_T + E_V + E_J + E_{XC} \quad (68)$$

onde E_T representa a energia cinética dos elétrons, E_V , a energia potencial da atração núcleo-elétron e da repulsão núcleo-núcleo, E_J , a repulsão elétron-elétron e E_{XC} é o

termo troca-correlação, que inclui toda a parte remanescente das interações elétron-elétron.

A função de onda do estado fundamental e todas as propriedades decorrentes deste estado são funcionais da densidade eletrônica $\mathbf{r}(r)$, que descreve a distribuição de carga do sistema. A densidade eletrônica é o *observável* mecânico quântico.

A energia do estado fundamental de um sistema multieletrônico, sob um dado potencial externo $V(r)$, pode ser escrita como:

$$E_n(\mathbf{r}) = \int V(r) \mathbf{r}(r) dr + F(\mathbf{r}) \quad (69)$$

sendo F um funcional universal de \mathbf{r} que é independente do potencial externo $V(r)$.

Considerando-se um sistema com N elétrons, o funcional $F(\mathbf{r})$ pode ser representado pela soma dos funcionais de energia cinética, $T(\mathbf{r})$, e de repulsão eletrônica, $V_{ee}(\mathbf{r})$. A energia eletrônica total torna-se

$$E_{el}(\mathbf{r}) = T(\mathbf{r}) + \int \mathbf{r}(r) V(r) dr + V_{ee}(\mathbf{r}) \quad (70)$$

onde $V_{ee} = E_J + E_{XC}$.

Uma diferença significativa entre a metodologia DFT e a Hartree-Fock está no potencial V_{XC} , definido como a derivada funcional da energia total de troca e correlação:

$$V_{XC}(r) = \frac{\partial E_{XC}(\mathbf{r})}{\partial \mathbf{r}(r)} \quad (71)$$

Se a forma exata de E_{XC} e de V_{XC} for conhecida, a estratégia de Kohn-Sham fornece a energia exata, isto é, a descrição correta do hamiltoniano H da equação de Schrödinger. Portanto, a aproximação DFT é, em princípio, exata. A aproximação surge quando é preciso expressar o funcional para a energia de troca-correlação, E_{XC} , e o correspondente potencial, V_{XC} . Uma grande variedade de métodos tem surgido na literatura para representar o termo de troca-correlação.

Neste trabalho, utilizamos três métodos baseados na estratégia DFT, os funcionais híbridos B3LYP⁵² e B3PW91⁵³ e o funcional BP86,⁵⁴ todos baseados na aproximação generalizada do gradiente (GGA).

Considerando-se que a teoria HF também inclui um termo de troca como parte de sua formulação, Becke formulou um funcional que inclui uma combinação da troca exata (HF) e da troca-correlação (DFT),⁵⁵ definido como:

$$E_{XC}^{Hybrid} = c^{HF} E_X^{HF} + c^{DFT} E_{XC}^{DFT} \quad (72)$$

Em seguida, Becke introduziu coeficientes semi-empíricos - daí o termo potencial híbrido - para determinar o peso de vários componentes,⁵⁶ levando a seguinte expressão para E_{XC}

$$E_{XC}^{B3} = E_X^{LDA} + a(E_X^{HF} - E_X^{LDA}) + bE_X^{B88} + cE_C^{PW91} \quad (73)$$

Nesta expressão, a energia de troca-correlação é definida por

$$E_{XC}^{LDA} = \int \mathbf{r}(r) \mathbf{e}_{XC}(\mathbf{r}) dr \quad (74)$$

onde \mathbf{e}_{XC} é a energia de troca-correlação por partícula do gás de elétrons de densidade \mathbf{r} , associada ao potencial LDA (*local density approximation*, LDA). Becke utilizou seu funcional de troca de 1988, E_X^{B88} , que representa uma correção não local para o termo local E_X^{LDA} ⁵⁷ e o funcional de Correlação de Perdew e Wang's, E_C^{PW91} .⁵³ O parâmetro \mathbf{a} determina a quantidade de troca na mistura dos funcionais HF e LDA, enquanto \mathbf{b} e \mathbf{c} controlam as contribuições de troca e as correções do gradiente de correlação, na aproximação de densidade local. Os três parâmetros empíricos foram escolhidos de forma que reproduzissem as energias de atomização e ionização, bem como a afinidade de prótons para moléculas pertencentes ao banco de dados G2^g.⁵⁸

^g Banco de dados termodinâmicos que contém valores de referencia energética, obtidos experimentalmente para pequenas moléculas, contendo os principais grupos de elementos. Originalmente coletados por Curtiss *et al.*⁵⁸

De acordo com o modelo de sistema, no qual toda aproximação do funcional troca-correlação está baseada, o modelo do *gás uniforme de elétrons*^{h,50} esta descrição da energia por partícula é avaliada como a probabilidade $r(\vec{r})$ de que existe de fato um elétron nesta posição do espaço. Escrevendo E_{XC} como em (74) define a aproximação de funcional de densidade local, LDA. Usando não apenas a informação sobre a densidade local $r(\vec{r})$, mas adicionando informações sobre o gradiente de densidade de carga, $\nabla r(\vec{r})$, define se a aproximação de funcional de densidade não local (*generalized gradient approximation, GGA*)ⁱ.

O outro funcional híbrido que utilizamos, proposto por Stephens *et al.*, em 1994,⁵² é, atualmente, o mais comumente utilizado, e é conhecido como B3LYP:

$$E_{XC}^{B3LYP} = E_X^{LDA} + a(E_X^{HF} - E_X^{LDA}) + bE_X^{B88} + E_C^{VWN3} + c(E_C^{LYP} - E_C^{VWN3}) \quad (75)$$

Sendo muito similar à proposta original de Becke, o funcional de correlação PW91 é substituído, na equação (75), pelo funcional de LYP de 1988,⁶⁰ que representa um potencial não local, e é dependente da densidade eletrônica, r , e pelo funcional VWN3, desenvolvido por Vosko, Wilk e Nusair,⁶¹ que representa um potencial local, dependente de r .

Os métodos pBP e BP, implementados no software SpartanPro 1.0.5,⁶² também foram estudados para comparação, em termos de qualidade e velocidade, com os dois funcionais híbridos B3 implementados no software Gaussian98.⁶³ O modelo BP, também chamado de BP86, utiliza a aproximação de gradiente generalizada, proposta por Becke⁵⁷ e Perdew,⁵³ incorporando correções não locais (do gradiente da densidade eletrônica) nos termos locais de troca e correlação. A correção não local deve ser recalculada em cada iteração SCF, devido às mudanças no gradiente. No Spartan, foi utilizado uma 'estratégia' que permite acelerar o cálculo SCF, incluindo a correção não local somente depois de obtida a convergência SCF, utilizando-se apenas a parte local. Este método é chamado de pBP, por incluir as correções não locais como uma "perturbação", após a convergência SCF da parte

^h A idéia central deste modelo é a de um sistema onde os elétrons se movem em um meio com cargas positivas distribuídas de tal modo que o *ensemble* total seja eletricamente neutro, e a densidade eletrônica apresente valor constante em qualquer ponto do sistema.⁵⁰

ⁱ Para estudo detalhado ver Koch W. and Holthausen M. C., páginas 70-78.⁵⁹

local. O método pBP oferece um ganho considerável na velocidade de cálculo, principalmente em otimizações de geometria, sem perdas consideráveis na qualidade das geometrias, energias e dipolos, em relação ao procedimento BP tradicional. O Spartan ainda permite um ganho adicional na velocidade de cálculo empregando funções de base numéricas, tabuladas, no lugar das gaussianas tradicionais. Estas bases são chamadas DN* e DN**, quando aumentadas com funções tipo d (*) em átomos pesados, e funções tipo p (**) em hidrogênios. Estas bases numéricas mostram resultados equivalentes, ou superiores, às bases 6-311G tradicionais. Para uma comparação entre os métodos pBP e BP, e bases tradicionais versus numéricas, ver a referência 64,⁵⁴ onde várias energias de reação, transição, geometrias e dipolos são comparados a valores experimentais e teóricos em um grupo variado de sistemas moleculares.

É importante ressaltar que os métodos baseados em DFT GGA requerem, em geral, o uso de técnicas numéricas de integração, que levam a uma incerteza maior nos resultados do que os métodos *ab initio* tradicionais (HF, MP2, etc.). Devido a este fato, a exatidão esperada não pode ser superior a +/- 0.1 kcal.mol⁻¹ em energias, e +/- 0.005 Å em geometrias.

Capítulo 3

Resultados e análise

3.1 - Estudo das interações da Citosina com o íon Mg^{2+}

3.1.1 Os sistemas estudados e o nível de cálculo

A escolha do conjunto de base

Com o intuito de obter um conjunto de base que pudesse agregar qualidade e baixo custo computacional, cálculos no nível HF foram realizados para o sistema citosina- Mg^{2+} , utilizando-se as configurações representadas na Figura 1.1, onde a citosina livre foi otimizada utilizando HF/6-31G* e depois o Mg^{2+} fixado em torno de 3 Å de distância do N4 da citosina, e em ângulos definidos. A distância do cátion ao centro de interação foi definida com base na análise de estruturas de raios-X de ácidos nucleicos em interação com o Mg^{2+} . A escolha do centro de interação N4, por sua vez, permite a aproximação do Mg^{2+} em diferentes ângulos. Essas configurações foram mantidas fixas.

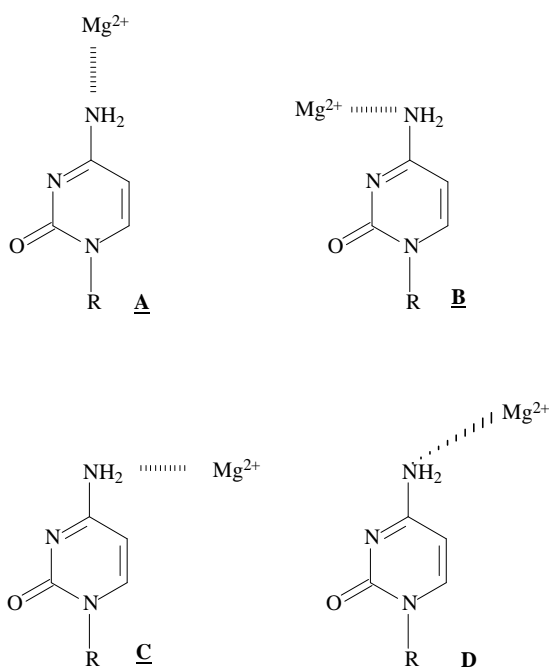


Figura 1. 1 - Configurações do sistema citosina- Mg^{2+} , com o cátion fixado próximo ao N4 da nucleobase.

Os valores de energia de interação obtidos para diferentes conjuntos de base estão apresentados na Tabela 1.1. Os resultados indicam que o conjunto de base 6-31+G* apresenta valores de energia de interação equivalentes àqueles obtidos com o conjunto de base 6-311++G(2d,2p), a um custo computacional muito menor. A maior

diferença na energia relativa foi de 3,2 kcal.mol⁻¹ (5,8%), obtida para a configuração C; nas demais configurações, as diferenças foram inferiores a 3,8%. A base mínima 6-31G* apresenta diferença máxima de 7% em relação à base estendida, o que não melhora com a adição de funções de polarização nos hidrogênios. As demais bases não apresentaram praticamente nenhuma diferença considerável em relação à base 6-31+G*, não justificando, portanto, o uso de uma base maior, devido ao maior custo computacional.

Tabela 1.1 - Energia de interação HF, em kcal.mol⁻¹, do sistema citosina-Mg²⁺, sem correção BSSE.

Conjunto de base	Configuração	Energia de interação	Energia Relativa
6-31G*	A	-18,67	39,17
	B	-57,84	0,0
	C	1,64	59,48
	D	-29,48	28,36
6-31G**	A	-18,73	39,23
	B	-57,96	0,0
	C	1,45	59,41
	D	-29,41	28,55
6-31+G*	A	-15,42	39,71
	B	-55,14	0,0
	C	3,71	58,84
	D	-27,16	27,97
6-31++G*	A	-15,45	39,69
	B	-55,14	0,0
	C	3,52	58,66
	D	-27,17	27,98
6-31++G**	A	-15,56	39,73
	B	-55,9	0,0
	C	3,52	58,57
	D	-27,02	28,26
6-311G*	A	-17,29	39,37
	B	-56,65	0,0
	C	2,10	58,75
	D	-28,64	28,01
6-311+G*	A	-15,42	39,67
	B	-55,08	0,0
	C	3,34	58,42
	D	-27,28	27,81
6-311++G(2d,2p)	A	-16,18	38,25
	B	-54,43	0,0
	C	1,19	55,62
	D	-27,34	27,09

O sistema estudado

O estudo do complexo citosina-Mg²⁺ foi realizado com o magnésio fixado em posições definidas em relação aos sítios de interação da citosina (Figura 1.2). Cátions metálicos podem interagir com a citosina, de maneira monodentada, através dos centros de interação N3, O2, N4, C5, ou por interação tipo π , através de C5 e C6. A citosina também pode interagir, simultaneamente, com íons metálicos através dos centros N3 e O2, formando ligações do tipo quelato.^{64,65} Na Figura 1.2, estão representadas as configurações que foram estudadas. As letras maiúsculas do alfabeto foram usadas para identificar a geometria de acordo com a posição do Mg²⁺ em relação ao sítio ativo. Três grupos foram considerados de acordo com a distância do magnésio ao sítio de interação da nucleobase nitrogenada. O primeiro e o segundo grupos com o Mg²⁺ fixado, respectivamente, a 4 e 6 Å de distância do sítio de interação da citosina; estas configurações foram criadas a partir da molécula da citosina com geometria otimizada, utilizando-se a aproximação HF e o conjunto de base 6-31+G*. Em seguida, o Mg²⁺ foi fixado em diferentes distâncias e ângulos (Figura 1.2), e as novas geometrias do complexo citosina-Mg²⁺ não foram otimizadas. No terceiro grupo estudado, o Mg²⁺ foi fixado próximo aos centros de interação, e a geometria do complexo foi otimizada por completo. A escolha destas configurações permite investigar o efeito da posição espacial do cátion metálico na polarização da nucleobase e na transferência de carga.

O nível de cálculo

Todos os cálculos foram realizados em nível *ab initio*, com procedimentos SCF implementados no programa Gaussian98.⁶³ As energias de interação e transferência de carga foram avaliadas através de cálculos utilizando-se a aproximação HF, e os métodos DFT (funcional B3LYP), MP2 e CCSD(T), que permitem avaliar a correlação eletrônica. Todos os elétrons foram incluídos no tratamento da correlação eletrônica para MP2 e CCSD(T). Todos os cálculos foram realizados com o mesmo conjunto de base, 6-31+G*, e com a opção *tight* para o critério de convergência do ciclo SCF. O conjunto de base 6-31+G* representa um compromisso entre acurácia e capacidade computacional, testado previamente. As cargas atômicas parciais foram obtidas utilizando a análise populacional de Mulliken⁶⁶ e o método de cargas derivadas do potencial eletrostático, ChelpG.⁶⁷ No entanto, não foi possível considerar as

excitações simples e triplas na obtenção das cargas para o método *coupled cluster*. Devido a uma restrição no algoritmo do programa Gaussian98, o método CCD foi usado para o cálculo das cargas ChelpG.

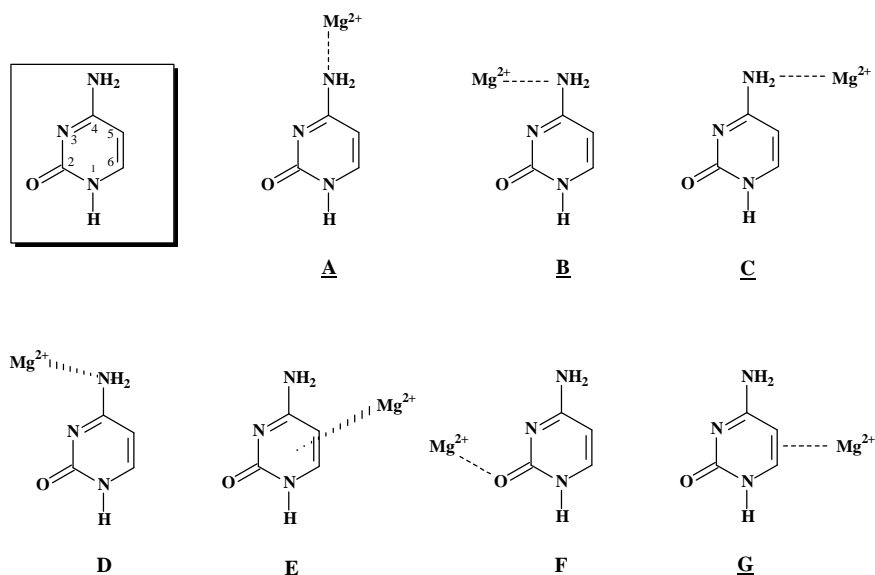


Figura 1.2 - Configurações do complexo citosina-Mg²⁺. A localização dos sítios de interação corresponde aos contatos entre o Mg²⁺ e a citosina. (----) indica interações no plano e (.....), interações fora do plano. Os números, na figura no canto superior esquerdo, indicam o rótulo do átomo que será usado ao longo do trabalho.

3.1.2 - Resultados e análise

a) O sistema com geometria fixa

A energia de interação do complexo citosina-Mg²⁺ foi calculada como a diferença entre a energia do complexo e a soma das energias da citosina e do Mg²⁺ livres. Na Tabela 1.2, estão os valores de energia de interação do complexo, obtidos em diferentes níveis de teoria, para as diversas configurações do sistema (Figura 1.2). Na primeira coluna, estão os resultados obtidos utilizando-se a aproximação HF e, nas colunas seguintes, os resultados com valores mais acurados, que incluem o efeito de correlação de elétrons, tais como o MP2 e o CCSD(T), além do B3LYP, um funcional híbrido da teoria do funcional de densidade. Os maiores valores de energia de estabilização foram aqueles obtidos com o método CCSD(T), que incluem excitações simples, duplas e triplas, enquanto as menores energias de estabilização foram obtidas com o HF, em que os efeitos de correlação de elétrons não são, diretamente, considerados. Os valores apresentados na Tabela 1.2 indicam dois conjuntos distintos

para a ordem de estabilização das diferentes configurações do complexo citosina-Mg²⁺, de acordo com os diferentes níveis de teoria. Para as configurações com o Mg²⁺ posicionado a 4 Å do sítio de interação da nucleobase, têm-se as seguintes ordens de estabilização: CCSD(T)>B3LYP>MP2>HF, para as configurações B, C, D, E, F e G, e CCSD(T)>MP2>B3LYP>HF, para a configuração A. No posicionamento do Mg²⁺ a 6 Å do sítio de interação, a ordem de estabilização é CCSD(T)>MP2>B3LYP>HF. Deve-se notar, para os dois conjuntos de configurações (4 e 6 Å), os baixos valores de energia de estabilização obtidos com o método HF.

Os resultados obtidos com HF, B3LYP e CCSD(T) indicam que as configurações B e F são as estruturas mais estáveis para os dois conjuntos (4 e 6 Å). Este fato deve ser analisado observando-se os sítios da citosina que interagem com o Mg²⁺ nas duas conformações. A posição do Mg²⁺ é similar nos dois casos, estando localizado entre dois centros de atração: N4 e N3, na configuração B, e N3 e O2, na configuração F. Estas configurações apresentam basicamente a mesma distância interatômica do Mg²⁺ aos centros atrativos. As duas configurações também são sugeridas na literatura como sendo as interações mais estáveis para a ligação da citosina com cátions metálicos.^{64,65} Os valores de energia de estabilização, obtidos com o método MP2, sugerem que a estrutura A seja mais estável que a B.

Tabela 1.2 - Energias de interação, ΔE (kcal.mol⁻¹), do complexo citosina-Mg²⁺, em diferentes configurações, com o magnésio posicionado a 4 e 6 Å de distância do sítio de interação^a

	Citosina-Mg ²⁺ - 4 Å				Citosina-Mg ²⁺ - 6 Å			
	<u>HF</u>	<u>B3LYP</u>	<u>MP2</u>	<u>CCSD(T)</u>	<u>HF</u>	<u>B3LYP</u>	<u>MP2</u>	<u>CCSD(T)</u>
A	-16,25	-75,01	-82,13	-101,23	-24,49	-88,26	-115,01	-116,52
B	-38,63	-85,20	-67,77	-127,06	-36,47	-93,37	-96,43	-123,07
C	-6,78	-62,69	-55,28	-81,40	-17,24	-80,12	-91,18	-105,06
D	-26,27	-74,86	-61,18	-98,02	-25,93	-84,15	-86,76	-109,59
E	-27,38	-68,59	-51,48	-88,18	-24,71	-81,76	-78,74	-104,73
F	-51,41	-97,67	-56,44	-151,57	-40,51	-97,08	-99,21	-127,47
G	-6,16	-62,94	-53,19	-82,10	-16,94	-79,91	-88,10	-104,12

^aAs letras maiúsculas referem à orientação do Mg²⁺ em relação à nucleobase (Figura 1.2)

Os resultados sugerem que o efeito de correlação eletrônica para este sistema é muito importante e deve ser considerado. O papel da correlação de elétrons deve ser avaliado comparando-se os valores de ΔE^{HF} com as outras aproximações, ΔE^{B3LYP} , ΔE^{MP2} e $\Delta E^{CCSD(T)}$. O método CCSD(T) permite obter as maiores energias de interação. A Figura 1.3 mostra a diferença de energia de todas as geometrias em relação àquela mais estável, para todos os métodos de cálculo utilizados. Pode-se observar que o método HF apresentou os maiores desvios em relação à estrutura mais estável, enquanto os métodos B3LYP e CCSD(T) apresentaram uma tendência semelhante, especialmente para as configurações com o Mg^{2+} a 6 Å de distância do centro atrativo. Os desvios dos valores de energia de interação, comparados com a estrutura mais estável, mostraram um grande decréscimo para a distância de 6 Å (Figura 1.3 b); em relação ao HF, por exemplo, o maior desvio observado, a 6 Å, foi de 58 %, enquanto, o valor obtido, a 4 Å, foi de 88%. Os menores desvios dos valores de energia de interação foram encontrados para os métodos B3LYP e CCSD(T) (Figura 1.3).

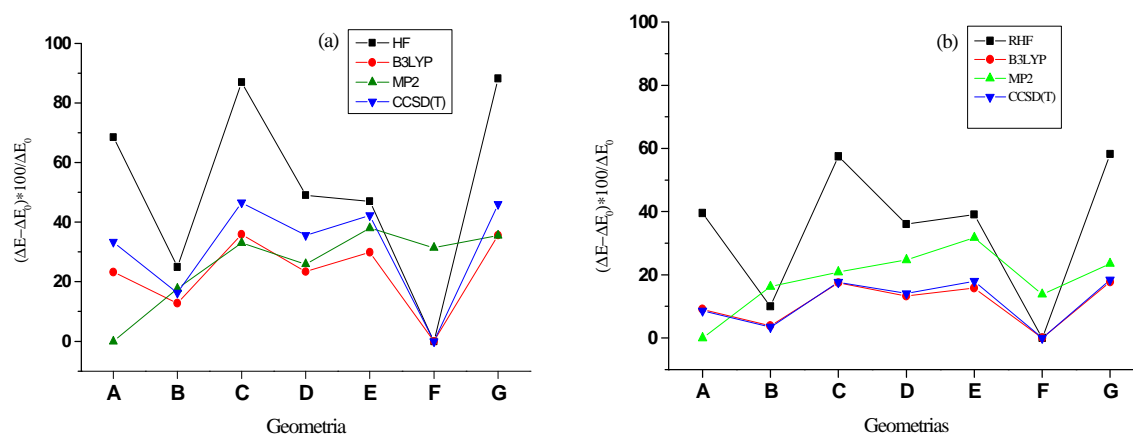


Figura 1.3 - Energia de interação em relação à estrutura mais estável $(\Delta E - \Delta E_0) * 100 / \Delta E_0$. Mg^{2+} fixado a 4 Å (a) e 6 Å (b) do sítio de interação.

A análise dos orbitais mostra que o orbital HOMO, do complexo citosina- Mg^{2+} , está estabilizado em relação à molécula de citosina isolada, para todas as configurações; isto pode ser observado para todos os métodos: HF, B3LYP, MP2 e CCSD(T). Entretanto, o orbital HOMO da estrutura mais estável do complexo, a geometria F, tem quase a mesma contribuição dos Orbitais Atômicos (AOs) que a molécula de citosina isolada (Figura 1.4), exceto pelo fato de que a contribuição AO do N3 decresceu, enquanto a contribuição AO do N4 aumentou significativamente.

Por outro lado, o orbital LUMO, do complexo citosina-Mg²⁺, é composto, principalmente, de contribuições atômicas do cátion Mg²⁺.

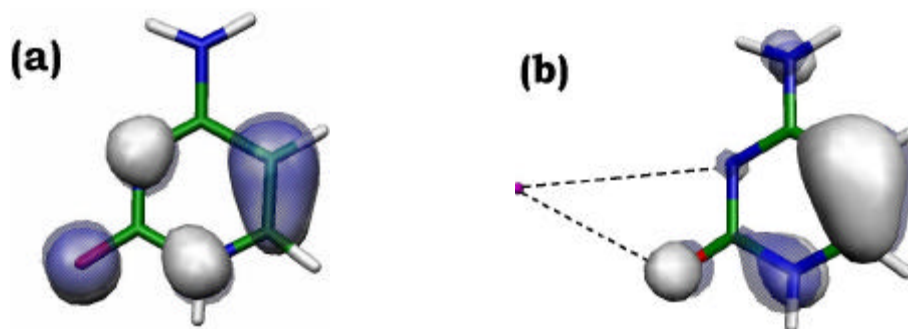


Figura 1.4 - Orbital HOMO: (a) citosina livre e (b) complexo citosina-Mg²⁺, na geometria F.

Os valores das cargas atômicas parciais, ChelpG e Mulliken, para o Mg, obtidos no mesmo nível de teoria das energias de interação, estão mostrados na Tabela 1.3. As cargas derivadas do potencial eletrostático mostram que as configurações com o Mg²⁺, fixado à distância de 6 Å apresentam menores valores do que a 4 Å. Isto reflete uma maior transferência de carga para os sistemas com o Mg²⁺ a 6 Å.

Tabela 1.3 - Cargas atômicas parciais do magnésio, ChelpG e Mulliken, no sistema citosina-Mg²⁺ para o íon posicionado a 4 e 6 Å do sítio de interação da citosina^{a,b}

	Citosina-Mg ²⁺							
	d_{Mg} (4 Å)				d_{Mg} (6 Å)			
	HF	B3LYP	MP2	CCD	HF	B3LYP	MP2	CCD
A	1,35 (1,32)	1,11 (1,08)	0,56 (0,51)	0,15 (0,02)	1,29 (1,28)	1,08 (1,07)	0,42 (0,41)	0,25 (0,19)
B	1,59 (1,58)	1,21 (1,18)	0,65 (0,60)	0,35 (0,26)	1,41 (1,41)	1,13 (1,13)	0,45 (0,44)	0,11 (0,04)
C	1,37 (1,30)	1,12 (1,05)	0,79 (0,70)	0,35 (0,15)	1,28 (1,26)	1,07 (1,05)	0,60 (0,58)	0,33 (0,26)
D	1,41 (1,47)	1,10 (1,14)	0,72 (0,74)	0,10 (0,13)	1,33 (1,34)	1,09 (1,09)	0,57 (0,56)	0,15 (0,10)
E	1,43 (1,55)	1,11 (1,18)	0,89 (0,94)	0,30 (0,28)	1,34 (1,34)	1,09 (1,09)	0,63 (0,62)	0,16 (0,10)
F	1,90 (1,90)	1,24 (1,24)	1,56 (1,52)	1,74 (1,60)	1,43 (1,43)	1,14 (1,14)	0,43 (0,42)	0,09 (0,05)
G	1,36 (1,31)	1,11 (1,06)	0,83 (0,76)	0,36 (0,19)	1,28 (1,26)	1,07 (1,05)	0,63 (0,62)	0,34 (0,27)

^a Os valores entre parênteses representam as cargas de Mulliken. ^b Devido às restrições do algoritmo, as cargas ChelpG e Mulliken, para o *coupled cluster*, foram obtidas utilizando CCD, sem excitações simples e triplas.

Pode-se verificar que as maiores transferências de carga observadas foram obtidas com os métodos CCD e MP2. Além disso, a transferência de carga mais

significativa foi verificada para as estruturas mais estáveis, geometrias B e F, com o método CCD a 6 Å. A maior transferência de carga observada foi para a geometria F (6 Å), utilizando o método CCD, em concordância com o maior valor de energia de estabilização, obtido com o método CCSD(T).

Tabela 1.4 - Valores de δ_{BSSE} , em kcal.mol⁻¹, para as energias de interação do complexo citosina-Mg²⁺

Citosina-Mg²⁺ (4 Å)							
	A	B	C	D	E	F	G
D ^{HF}	-16,25	-38,63	-6,78	-26,27	-27,38	-51,41	-6,16
D ^{HF} _{BSSE}	-16,16	-38,53	-6,70	-26,17	-27,22	-51,34	-6,08
d_{BSSE}	-0,09	-0,10	-0,08	-0,10	-0,16	-0,07	-0,08
D ^{B3LYP}	-75,01	-85,20	-62,69	-74,86	-68,59	-97,67	-62,94
D ^{B3LYP} _{BSSE}	-74,94	-85,11	-62,57	-74,78	-68,43	-97,60	-62,83
d_{BSSE}	-0,07	-0,09	-0,12	-0,09	-0,16	-0,07	-0,12
D ^{MP2}	-82,13	-67,77	-55,28	-61,18	-51,48	-56,44	-53,19
D ^{MP2} _{BSSE}	-81,78	-67,30	-54,78	-60,60	-50,70	-56,10	-52,75
d_{BSSE}	-0,35	-0,47	-0,50	-0,58	-0,78	-0,34	-0,43
D ^{CCSD(T)}	-101,23	-127,06	-81,40	-98,02	-88,18	-151,57	-82,10
D ^{CCSD(T)} _{BSSE}	-100,85	-126,56	-80,88	-97,39	-87,36	-151,20	-81,64
d_{BSSE}	-0,38	-0,50	-0,52	-0,62	-0,82	-0,37	-0,46
Citosina-Mg²⁺ (6 Å)							
	A	B	C	D	E	F	G
D ^{HF}	-24,49	-36,47	-17,24	-25,93	-24,71	-40,51	-16,94
D ^{HF} _{BSSE}	-24,47	-36,45	-17,21	-25,90	-24,67	-40,49	-16,91
d_{BSSE}	-0,02	-0,02	-0,03	-0,03	-0,04	-0,02	-0,03
D ^{B3LYP}	-88,26	-93,37	-80,12	-84,15	-81,76	-97,08	-79,91
D ^{B3LYP} _{BSSE}	-88,24	-93,34	-80,08	-84,14	-81,71	-97,06	-79,87
d_{BSSE}	-0,02	-0,02	-0,04	-0,01	-0,06	-0,02	-0,04
D ^{MP2}	-115,01	-96,43	-91,18	-86,76	-78,74	-99,21	-88,10
D ^{MP2} _{BSSE}	-114,92	-96,32	-91,03	-86,62	-78,53	-99,10	-87,95
d_{BSSE}	-0,09	-0,11	-0,15	-0,14	-0,22	-0,10	-0,15
D ^{CCSD(T)}	-116,52	-123,07	-105,06	-109,59	-104,73	-127,47	-104,12
D ^{CCSD(T)} _{BSSE}	-116,42	-122,95	-104,90	-109,44	-104,50	-127,36	-103,96
d_{BSSE}	-0,10	-0,11	-0,16	-0,16	-0,23	-0,11	-0,16

Os valores de energia de interação dos complexos citosina-Mg²⁺, nas geometrias com o magnésio fixado a 4 e 6 Å do centro de interação, estão mostrados na Tabela 1.4. As energias obtidas com o BSSE podem ser comparadas àquelas onde o erro não foi considerado (Tabela 1.2). O valor de δ_{bsse} é maior para as

geometrias nas quais o Mg^{2+} está mais próximo do centro de interação (4 Å), como era esperado. Os maiores valores de δ_{bsse} foram observados para os métodos MP2 e CCSD(T), tendo sido inferior a $1,0 \text{ kcal.mol}^{-1}$ em todos os casos; os valores corresponderam a menos de 1,5 % da energia de interação, no caso do MP2, e a menos de 1% para o CCSD(T). Para as geometrias com o Mg^{2+} a 6 Å, os valores de δ_{bsse} não superaram $0,23 \text{ kcal.mol}^{-1}$, o que corresponde a menos de 0,3 % da energia de interação. Considerando-se que a escolha da base 6-31+G* implica diferenças nos valores de energias de até ~6 % em relação à maior base estudada, o erro devido ao efeito de superposição de base pode ser desconsiderado, sem maiores conseqüências.

A Tabela 1.5 mostra as energias de interação, calculadas utilizando-se o método *coupled cluster*, para o sistema citosina- Mg^{2+} nas duas geometrias, a 4 Å e a 6 Å. Os valores foram obtidos para excitações simples e duplas, CCSD, e simples, duplas e triplas, CCSD(T), em duas situações: i) apenas os elétrons de valência foram excitados e ii) todos os elétrons do sistema sofreram excitações.

Tabela 1.5 - Energia de interação, ΔE (em kcal.mol^{-1}), para os complexos citosina- Mg^{2+}

Energia de interação citosina-Mg^{2+}									
	Citosina-Mg^{2+} (4 Å)				Citosina-Mg^{2+} (6 Å)				
	<u>CCSD</u>		<u>CCSD(T)</u>		<u>CCSD</u>		<u>CCSD(T)</u>		
	Valência	Todos	Valência	Todos	Valência	Todos	Valência	Todos	
* A	-87,58	-60,54	-100,00	-100,85	-73,07	-101,36	-113,09	-116,42	
B	-83,42	-67,31	-122,24	-126,56	-76,71	-100,51	-115,66	-122,95	
C	-72,90	-46,62	-85,20	-80,88	-64,18	-92,76	-104,15	-104,90	
D	-76,09	-58,29	-94,44	-97,39	-68,21	-92,43	-104,70	-109,44	
E	-70,69	-52,51	-89,76	-87,36	-65,28	-88,74	-100,78	-104,50	
F	-89,44	-77,47	-150,25	-151,20	-79,72	-102,99	-119,15	-127,36	
G	-71,58	-45,77	-84,93	-81,64	-63,30	-91,67	-103,13	-103,96	

* Quantidade de elétrons para excitação

Apesar do espaço de configurações das excitações ser diferente entre o complexo e os monômeros isolados - no caso de se considerar apenas os elétrons de

valência para as excitações -, pode-se tentar estabelecer uma comparação qualitativa entre as energias de interação obtidas com todos os elétrons e as obtidas com apenas os elétrons de valência. Para a geometria a 4 Å, observa-se que não há uma tendência definida, os valores sofrem oscilações para mais e para menos, independentemente de todos os elétrons ou de apenas os elétrons de valência terem sofrido excitações. No entanto, para a geometria a 6 Å há um ligeiro aumento no valor da energia, quando todos os elétrons são considerados. A maior diferença observada foi para a configuração F, ~ 8 kcal.mol⁻¹, que corresponde a, aproximadamente, 6% do valor da energia de interação. A importância de se considerar as excitações triplas para esses sistemas pode ser observada comparando-se os valores obtidos em CCSD e em CCSD(T): quando apenas os elétrons de valência são considerados para as excitações, observa-se um aumento de até 13% nos valores de energia; se todos os elétrons forem considerados, o aumento fica em torno de 37% (Tabela 1.5).

A Tabela 1.6 mostra os valores da carga atômica parcial do magnésio, no complexo citosina-Mg²⁺, obtidos com o método ChelpG. Os valores de carga obtidos com apenas os elétrons de valência apresentam uma diferença desprezível, cerca de ~0,01 e, daqueles obtidos quando todos os elétrons foram considerados para as excitações.

Tabela 1.6 - Carga atômica parcial, ChelpG (em e), para o magnésio, no complexo citosina-Mg²⁺.

d _{Mg} CCD				
*	d Mg - 4 Å		d Mg - 6 Å	
	Valência.	Todos	Valência	todos
A	0,15	0,15	0,24	0,25
B	0,35	0,35	0,10	0,11
C	0,34	0,35	0,32	0,33
D	0,09	0,10	0,15	0,15
E	0,29	0,30	0,15	0,16
F	1,74	1,74	0,08	0,09
G	0,35	0,36	0,33	0,34

* Quantidade de elétrons para excitação

Naturalmente, o ideal seria utilizar todos os elétrons nas excitações, especialmente para o cálculo de energias de interações, mas dependendo da diferença no custo computacional, pode ser mais conveniente assumir erros de até 6%, principalmente ao se trabalhar com sistemas maiores do que este.

b) O sistema com geometria otimizada

O estudo anterior, com o complexo citosina-Mg²⁺, com o magnésio à distância de 4 e 6 Å, evidenciou que os efeitos de correlação são muito importantes, tanto para as energias quanto para as cargas. No entanto, devido ao alto custo computacional, no momento proibitivo, o complexo citosina-Mg²⁺ foi otimizado apenas no nível HF.

Parâmetros geométricos

Configurações do complexo citosina-Mg²⁺, com o Mg²⁺ fixado nas mesmas posições angulares mostradas na Figura 1.2, porém mais próximo do sítio de interação da citosina, foram submetidas a uma otimização completa no nível de teoria HF, com conjunto de base 6-31+G*. As geometrias resultantes convergiram para apenas três configurações de energia mínima, todas com o Mg²⁺ localizado entre dois centros de interação, como mostrado na Figura 1.5. Em Cyt 2 e Cyt 3, o cátion está no mesmo plano da molécula, enquanto que em Cyt 1, o Mg²⁺ está fora do plano, para trás da molécula, em um ângulo diedro de 34,5°.

A interação do Mg²⁺ com a citosina promoveu modificações consideráveis nas distâncias interatômicas da nucleobase. Há uma diminuição discreta no tamanho do anel, no complexo, se comparado com a nucleobase livre; porém, há um aumento considerável no comprimento das ligações entre os átomos do centro de interação e seus vizinhos subsequentes: em Cyt 2, a ligação C4-N4 passa de 1,39 Å para 1,45 Å, e a ligação N3-C4, de 1,30 Å para 1,33 Å, (Figura 1.5).

Uma análise do comprimento e dos ângulos de ligação desses complexos nos permite inferir sobre o poder de atração dos sítios de interação. Dos átomos de nitrogênio pertencentes aos centros de interação, o N4 apresenta-se como o menos atrativo, provavelmente devido à influência dos dois átomos de hidrogênio necessários para completar a sua valência. A força de atração mais acentuada do N3

pode ser verificada comparando-se o comprimento da ligação N3--Mg²⁺ (1,98 Å) com a ligação N4--Mg²⁺ (2,20 Å), em Cyt 2 (Figura 1.5). O centro de interação com maior poder atrativo na citosina é o oxigênio, O2, o que concorda com o comprimento da ligação O2—Mg²⁺, de 1,91 Å. Um maior ângulo de ligação O2-Mg²⁺-N3 (66,5°), se comparado com N3-Mg²⁺-N4 (65,2°), também indica um maior poder atrativo dos centros O2 e N3, aproximando o Mg²⁺ da molécula.

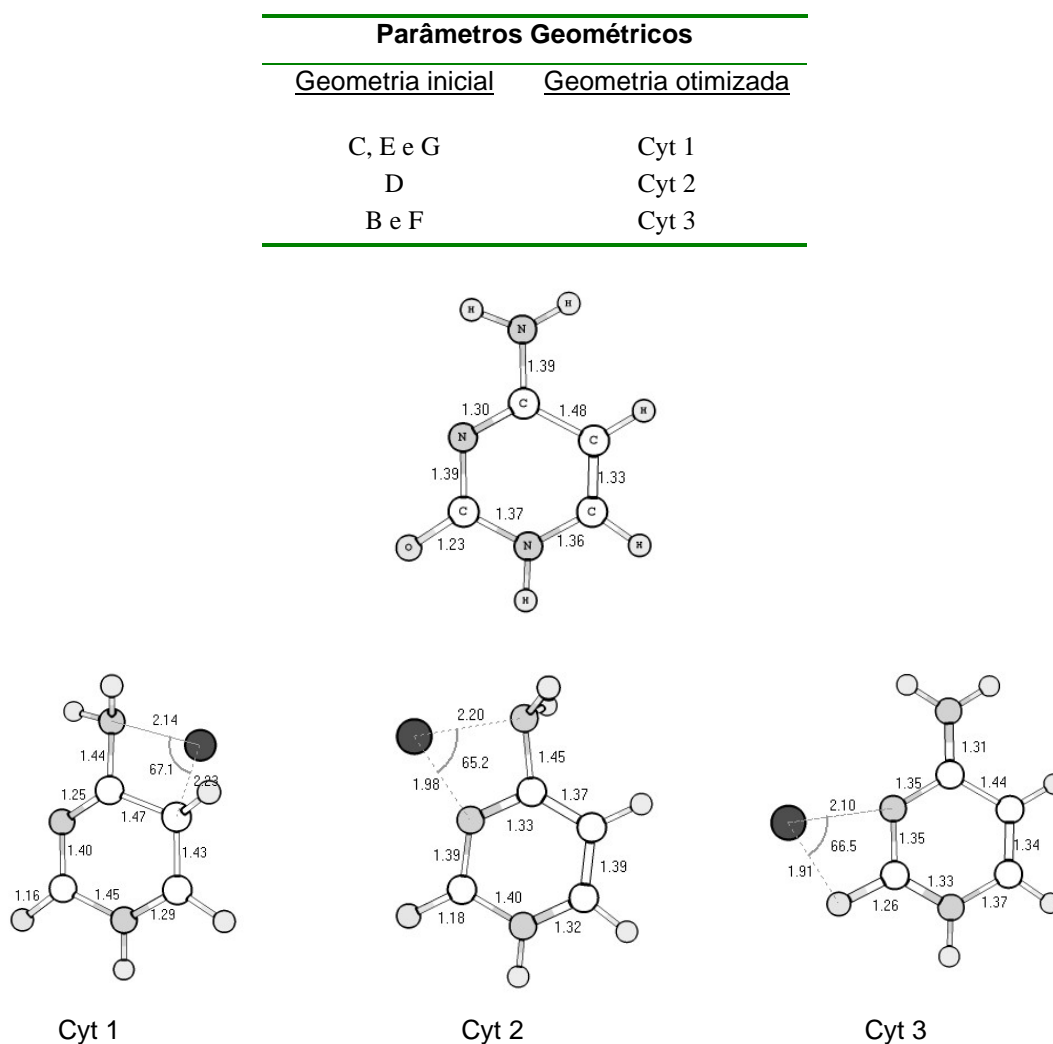


Figura 1.5 - Conformações dos três principais mínimos resultantes da otimização das 7 geometrias iniciais (A, B, C, D, E, F e G, Figura 1.1), no nível HF/6-31+G*. Parâmetros geométricos – comprimento de ligação e ângulo de ligação – da citosina livre e dos complexos citosina-Mg²⁺.

Energias de interação

Os valores das energias de interação para o complexo citosina-Mg²⁺, obtidos nos níveis de teoria HF, B3LYP e MP2, estão mostrados na Tabela 1.7. As maiores

energias de estabilização foram obtidas com o B3LYP. As energias obtidas com o HF e MP2 estão na mesma ordem de magnitude - diferindo apenas para Cyt 1, em que a energia HF é cerca de 6,5 kcal.mol⁻¹ maior do que a energia MP2. A conformação mais estável é semelhante à configuração F, nas geometrias fixas. As duas últimas colunas da Tabela 1.7 possuem informações sobre o erro de superposição de bases, avaliado para o sistema otimizado. Os menores valores de δ_{BSSE} foram observados para as energias calculadas no nível B3LYP, todos menores do que 1% do valor da energia de interação. O maior erro verificado, para a conformação Cyt 2, de ~2,14 kcal.mol⁻¹, corresponde a cerca de 1,21% do valor da energia de interação do sistema, e foi calculado nos níveis HF e MP2. Os valores de δ_{BSSE} para HF e MP2 são iguais.

Tabela 1.7 - Energia de interação, em kcal.mol⁻¹, do complexo citosina-Mg²⁺, nas geometrias otimizadas em nível HF, B3LYP e MP2.

Energia de interação HF, em kcal.mol ⁻¹				
<u>Sistema</u>	<u>Sem corr. BSSE</u>	<u>Com Corr. BSSE</u>	<u>d_{BSSE}</u>	<u>d_{BSSE} (em %)</u>
Cyt 1	-138,00	-136,41	1,59	1,15
Cyt 2	-177,16	-175,02	2,14	1,21
Cyt 3	-193,21	-192,11	1,10	0,57

Energia de interação B3LYP, em kcal.mol ⁻¹				
<u>Sistema</u>	<u>Sem corr. BSSE</u>	<u>Com Corr. BSSE</u>	<u>d_{BSSE}</u>	<u>d_{BSSE} (em %)</u>
Cyt 1	-142,06	-140,83	1,23	0,86
Cyt 2	-183,25	-181,47	1,78	0,97
Cyt 3	-195,91	-195,06	0,85	0,43

Energia de interação MP2, em kcal.mol ⁻¹				
<u>Sistema</u>	<u>Sem corr. BSSE</u>	<u>Com Corr. BSSE</u>	<u>d_{BSSE}</u>	<u>d_{BSSE} (em %)</u>
Cyt 1	-131,54	-129,95	1,59	1,21
Cyt 2	-177,20	-175,01	2,19	1,23
Cyt 3	-194,29	-193,19	1,10	0,57

Os valores de carga atômica parcial, ChelpG, do átomo de magnésio e dos átomos da citosina, pertencentes ao sítio de interação com o metal, estão mostrados na Tabela 1.8. De modo geral, observa-se um aumento no valor da carga, positiva ou negativa, dos átomos do sítio de interação, comparando-se a citosina livre com o complexo citosina-Mg²⁺. Este aumento na carga é mais acentuado nos átomos que interagem diretamente com o magnésio (Cyt 1- C5 e N4; Cyt 2 – N4 e N3; Cyt 3 – O2 e N3). A maior transferência de carga para o magnésio é observada na conformação Cyt 1.

Tabela 1.8 - Carga parcial ChelpG (e) do magnésio e dos átomos pertencentes ao sítio de interação do sistema otimizado

Método	Citosina livre			Mg	Cyt 1		
	C5	C4	N4		C5	C4	N4
HF	-0,72	1,19	-1,29	1,65	-1,82	1,46	-1,37
B3LYP	-0,64	1,08	-1,15	1,51	-1,51	1,29	-1,24
MP2	-0,59	1,03	-1,21	1,59	-1,61	1,33	-1,30
Método	Citosina livre			Mg	Cyt 2		
	N4	C4	N3		N4	C4	N3
HF	-1,29	1,19	-0,97	1,78	-1,40	1,27	-1,36
B3LYP	-1,15	1,08	-0,86	1,68	-1,31	1,05	-1,17
MP2	-1,21	1,03	-0,86	1,73	-1,35	1,05	-1,19
Método	Citosina livre			Mg	Cyt 3		
	C2	O2	N3		C2	O2	N3
HF	1,19	-0,76	-0,97	1,76	1,19	-0,85	-1,38
B3LYP	1,06	-0,68	-0,86	1,66	0,98	-0,74	-1,20
MP2	1,08	-0,69	-0,86	1,70	0,97	-0,76	-1,23

3.1.3 - Conclusões

Os resultados apresentados neste estudo de metodologia indicam que é imprescindível considerar a correlação de elétrons no estudo destes sistemas. Pode-se verificar que as maiores energias de interações, e as maiores transferências de carga foram obtidas com o método CCSD(T). Os valores de energia de interação (Tabela 1.2), obtidos com o MP2, não seguiram a mesma tendência do CCSD(T); a transferência de carga, porém, segue a mesma tendência nos dois métodos. Os valores de energia de interação obtidos com o B3LYP são menores que os obtidos

com o CCSD(T), em termos absolutos, mas seguem a mesma tendência do CCSD(T). Além disso, o B3LYP não representa de forma adequada a transferência de carga. Assim, o ideal é que o sistema nucleobase-Mg²⁺ seja estudado utilizando-se o método CCSD(T). Porém, o custo computacional e o tempo de cálculo podem ser fatores limitantes. Portanto, propõe-se que os sistemas sejam estudados utilizando-se os métodos B3LYP, para se ter um parâmetro da tendência energética, e o MP2, para se ter uma representatividade da transferência de carga.

3.2 - Estudo das interações das nucleobases com Mg^{2+}

3.2.1 - Os sistemas estudados e o nível de cálculo

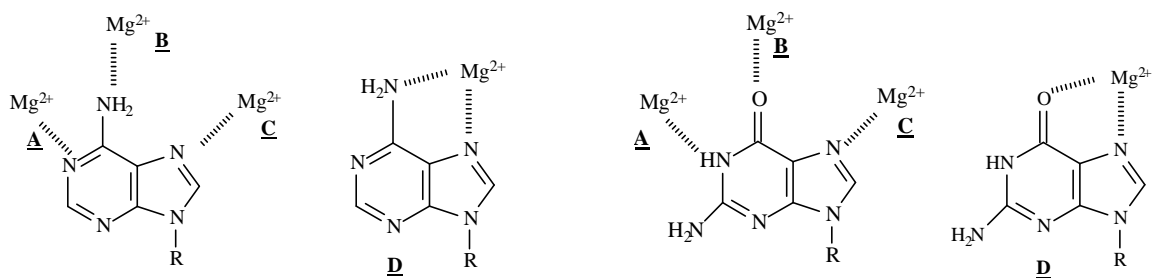
Os sistemas estudados

Cálculos foram realizados para os complexos nucleobase- Mg^{2+} - adenina- Mg^{2+} , citosina- Mg^{2+} , guanina- Mg^{2+} , timina- Mg^{2+} e uracila- Mg^{2+} - com o magnésio fixado em posições conhecidas como sítios de interação de cátions metálicos com as nucleobases (Figura 2.1). Os principais centros de interação com íons metálicos são os átomos N1, N3 e N7, na adenina, N3 e O2, na citosina, O4 e O2, na timina e uracila, e N7, na guanina.^{64,65} Para cada complexo, três grupos foram considerados, seguindo-se a mesma metodologia utilizada para a citosina: dois grupos foram avaliados de acordo com a distância do magnésio ao sítio de interação da nucleobase nitrogenada (4 ou 6 Å); e um terceiro grupo, no qual a geometria do complexo foi otimizada. Para os grupos com o Mg^{2+} posicionado a 4 e 6 Å da nucleobase, a geometria da base foi otimizada utilizando-se a aproximação HF e o conjunto de base 6-31+G*; em seguida, o Mg^{2+} foi fixado a distâncias e ângulos definidos (Figura 2.1). Para o grupo em que geometria do complexo foi otimizada, partiu-se da geometria com o Mg^{2+} posicionado à distância de 4 Å, e realizou-se uma otimização completa em busca da geometria de menor energia.

O nível de cálculo

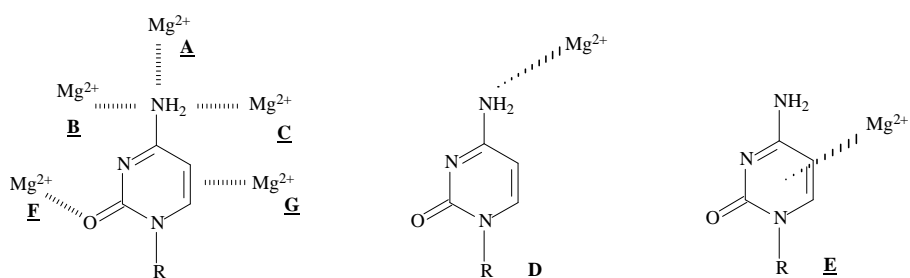
Todos os cálculos foram realizados em nível *ab initio*, com procedimentos SCF implementados no programa Gaussian98. As energias de interação e transferência de carga foram avaliadas utilizando-se a aproximação HF e os métodos B3LYP e MP2, que permitem avaliar a correlação eletrônica. Todos os elétrons foram incluídos no tratamento da correlação eletrônica para o MP2. Todos os cálculos foram realizados com o mesmo conjunto de base, 6-31+G*, e utilizando-se a opção de convergência *tight* para o ciclo SCF. As cargas atômicas parciais foram obtidas utilizando-se a análise populacional de Mulliken e o método de cargas derivadas do potencial eletrostático, ChelpG.

Estudos dos complexos citosina- Mg^{2+} mostraram que a contribuição BSSE é relativamente pequena, menor que 1 % da energia de interação do complexo. Portanto, a contribuição BSSE não foi calculada para os outros complexos.

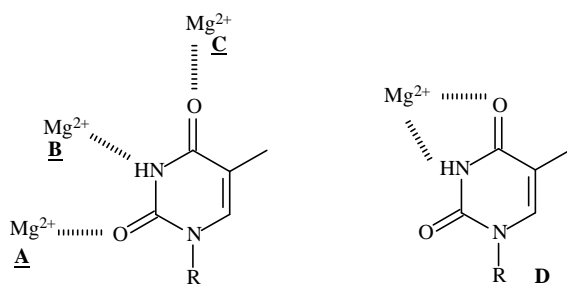


Adenina

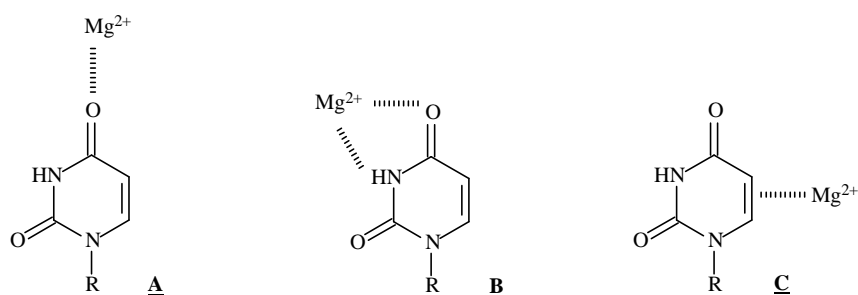
Guanina



Citosina



Timina



Uracila

Figura 2.1 - Configurações dos complexos nucleobases- Mg^{2+} estudados. A posição do Mg^{2+} em relação à nucleobase corresponde ao sítio de interação metal-nucleobase. (---) indica interações no plano e (.....) indica interações fora do plano.

3.2.2 - Resultados e análise

a) Sistemas com geometria fixa

A energia de interação dos complexos nucleobase-Mg²⁺ foi calculada como a diferença entre a energia do complexo e a energia dos monômeros isolados. As Tabelas 2.1, 2.2 e 2.3 mostram as energias de interação para as configurações apresentadas na Figura 2.1, calculadas para os complexos com o Mg²⁺ fixado a 4 e 6 Å de distância do sítio de interação, utilizando-se os métodos HF, B3LYP e MP2. As maiores energias de estabilização foram obtidas com o método MP2. A análise de algumas configurações, com o Mg²⁺ fixado à distância de 6 Å, permite uma consideração quantitativa desta observação: os valores de ΔE , obtidos com o método MP2, para a configuração A da adenina, citosina e timina, foram iguais, respectivamente, a -118,16, -115,01 e -111,41 kcal.mol⁻¹, enquanto para o método HF, os valores obtidos foram -50,20, -24,49 e -31,74 kcal.mol⁻¹. Os valores de energia de estabilização obtidos com o MP2 são até quatro vezes maiores do que os valores obtidos com o método HF. Deve-se observar que as configurações com os maiores valores de energia de estabilização para o HF são as mesmas observadas para o B3LYP, ou seja, estes métodos apresentam a mesma tendência. Cálculos CCSD(T) não foram realizados devido ao alto custo computacional. Para as configurações com o Mg²⁺ fixado à distância de 6 Å, os valores de ΔE são até 30 % maiores do que aqueles obtidos para as configurações com o Mg²⁺ fixado a 4 Å (Tabela 2.3).

Tabela 2.1 - Energia de interação HF, em kcal.mol⁻¹, para os complexos nucleobases-Mg²⁺ com o íon Mg(II) posicionado a 4 e 6 Å de distância do sítio de interação^a

	Nucleobases-Mg ²⁺ - 4 Å					Nucleobases-Mg ²⁺ - 6 Å				
	<u>Ade</u>	<u>Cyt</u>	<u>Gua</u>	<u>Thy</u>	<u>Ura</u>	<u>Ade</u>	<u>Cyt</u>	<u>Gua</u>	<u>Thy</u>	<u>Ura</u>
A	-50,01	-16,25	-38,70	-35,90	-28,87	-50,02	-24,49	-49,39	-31,74	-26,95
B	-38,40	-38,63	-66,99	-12,88	-17,29	-46,34	-36,47	-62,52	-28,08	-21,68
C	-42,96	-6,78	-62,97	-37,85	-10,23	-45,75	-17,24	-59,77	-32,25	-9,12
D	-40,88	-26,27	-73,44	-25,89	-	-45,74	-25,93	-63,34	-28,41	-
E		-27,38					-24,71			
F		-51,41					-40,51			
G		-6,16					-16,94			

^a As letras maiúsculas referem à orientação do Mg²⁺ em relação à nucleobase (Figura 2.1).

Tabela 2.2 - Energia de interação B3LYP, em kcal.mol⁻¹, para complexos de Nucleobases-Mg²⁺ com o íon Mg(II) posicionado a 4 e 6 Å de distância do sítio de interação

	Nucleobases-Mg ²⁺ - 4 Å					Nucleobases-Mg ²⁺ - 6 Å				
	<u>Ade</u>	<u>Cyt</u>	<u>Gua</u>	<u>Thy</u>	<u>Ura</u>	<u>Ade</u>	<u>Cyt</u>	<u>Gua</u>	<u>Thy</u>	<u>Ura</u>
A	-97,88	-75,01	-89,84	-86,75	-80,36	-104,62	-88,26	-105,47	-16,87	-82,93
B	-87,59	-85,20	-117,24	-50,05	-53,41	-101,54	-93,37	-117,56	-85,86	-75,54
C	-91,80	-62,69	-111,48	-87,96	-42,41	-100,96	-80,12	-115,61	-91,49	-65,01
D	-85,94	-74,86	-117,68	-52,45	-	-98,86	-84,15	-117,71	-86,04	-
E		-68,59					-81,76			
F		-97,67					-97,08			
G		-62,94					-79,91			

Tabela 2.3 - Energia de interação MP2, em kcal.mol⁻¹, para complexos nucleobases-Mg²⁺ com o íon Mg(II) posicionado a 4 e 6 Å de distância do sítio de interação

	Nucleobases-Mg ²⁺ - 4 Å					Nucleobases-Mg ²⁺ - 6 Å				
	<u>Ade</u>	<u>Cyt</u>	<u>Gua</u>	<u>Thy</u>	<u>Ura</u>	<u>Ade</u>	<u>Cyt</u>	<u>Gua</u>	<u>Thy</u>	<u>Ura</u>
A	-93,78	-82,13	-87,83	-80,82	-27,83	-118,16	-115,01	-121,60	-111,41	-89,27
B	-84,95	-67,77	-117,46	-18,23	-23,81	-116,86	-96,43	-141,30	-97,96	-76,99
C	-83,68	-55,28	-104,20	-77,35		-109,30	-91,18	-126,72	-107,62	-62,47
D	-75,54	-61,18	-105,16	-63,07		-103,75	-86,76	-126,12	-97,22	
E		-51,48					-78,74			
F		-56,44					-99,21			
G		-53,19					-88,10			

As cargas atômicas parciais, ChelpG e Mulliken, estão apresentadas nas Tabelas 2.4, 2.5 e 2.6, e foram obtidas no mesmo nível de teoria das energias (HF, B3LYP e MP2). É importante observar que os valores de carga de Mulliken estão em concordância com os valores ChelpG. Os valores de carga derivados do potencial eletrostático mostraram que as configurações com Mg²⁺ posicionado à distância de 6

Å do centro de interação apresentam valores de carga menores do que a 4 Å. Isto reflete uma maior transferência de carga para os sistemas com o Mg²⁺ a 6 Å.

A análise dos valores de cargas mostra que o efeito de transferência de carga tem um importante papel na energia de interação e, portanto, na estabilização do complexo. Para o MP2 as transferências de carga mais significativas foram verificadas para as interações mais estáveis (cf. Tabelas 2.3 e Tabela 2.6).

Os resultados indicam que o método HF é menos sensível à transferência de carga, seguido pelo método B3LYP, com uma transferência de carga um pouco mais significativa. A transferência de carga mais apreciável foi observada para o método MP2, para as duas geometrias (4 Å e 6 Å).

Tabela 2.4 – Carga atômica parcial do magnésio, ChelpG e Mulliken^a, com o Mg(II) posicionado a 4 e 6 Å de distância do sítio de ligação da nucleobase. Valores obtidos com o método HF.

Nucleobases-Mg ²⁺										
	<u>d_{Mg}</u> (4 Å)					<u>d_{Mg}</u> (6 Å)				
	<u>Ade</u>	<u>Cyt</u>	<u>Gua</u>	<u>Thy</u>	<u>Ura</u>	<u>Ade</u>	<u>Cyt</u>	<u>Gua</u>	<u>Thy</u>	<u>Ura</u>
A	1,24 (1,21)	1,35 (1,32)	1,03 (0,92)	1,52 (1,51)	1,98 (1,99)	1,10 (1,09)	1,29 (1,28)	0,99 (0,96)	1,38 (1,37)	1,50 (1,49)
B	1,10 (1,04)	1,59 (1,58)	1,22 (1,21)	1,95 (1,94)	1,93 (1,91)	1,06 (1,04)	1,41 (1,41)	1,09 (1,08)	1,39 (1,37)	1,51 (1,50)
C	1,18 (1,14)	1,37 (1,30)	1,23 (1,21)	1,55 (1,54)	1,95 (1,95)	1,07 (1,05)	1,28 (1,26)	1,08 (1,06)	1,39 (1,38)	1,43 (1,42)
D	1,22 (1,15)	1,41 (1,47)	1,36 (1,35)	1,56 (1,52)		1,08 (1,06)	1,33 (1,34)	1,12 (1,11)	1,39 (1,38)	
E		1,43 (1,55)					1,34 (1,34)			
F		1,90 (1,90)					1,43 (1,43)			
G		1,36 (1,31)					1,28 (1,26)			

^a Os valores entre parênteses representam as cargas de Mulliken.

Tabela 2.5 – Carga atômica parcial, ChelpG e Mulliken^a, do magnésio, com o Mg(II) posicionado a 4 e 6 Å de distância do sítio de ligação da nucleobase. Valores obtidos com o método B3LYP

Nucleobases-Mg ²⁺										
	d_{Mg} (4 Å)					d_{Mg} (6 Å)				
	<u>Ade</u>	<u>Cyt</u>	<u>Gua</u>	<u>Thy</u>	<u>Ura</u>	<u>Ade</u>	<u>Cyt</u>	<u>Gua</u>	<u>Thy</u>	<u>Ura</u>
A	1,06 (1,04)	1,11 (1,08)	0,99 (0,89)	1,18 (1,17)	1,26 (1,25)	1,00 (0,99)	1,08 (1,07)	0,95 (0,93)	1,72 (1,72)	1,20 (1,20)
B	1,01 (0,97)	1,21 (1,18)	1,04 (1,03)	1,43 (1,37)	1,40 (1,35)	0,99 (0,97)	1,13 (1,13)	1,99 (2,00)	1,13 (1,12)	1,20 (1,19)
C	1,04 (1,00)	1,12 (1,05)	1,05 (1,03)	1,19 (1,18)	1,30 (1,26)	0,99 (0,98)	1,07 (1,05)	0,99 (0,98)	1,13 (1,12)	1,17 (1,15)
D	1,06 (1,00)	1,10 (1,14)	1,10 (1,10)	1,46 (1,40)		1,00 (0,98)	1,09 (1,09)	1,00 (1,00)	1,13 (1,12)	
E		1,11 (1,18)					1,09 (1,09)			
F		1,24 (1,24)					1,14 (1,14)			
G		1,11 (1,06)					1,07 (1,05)			

^a Os valores entre parênteses representam as cargas de Mulliken.

Tabela 2.6 – Carga atômica parcial do magnésio, ChelpG e Mulliken^a, com o Mg(II) posicionado a 4 e 6 Å de distância do sítio de ligação da nucleobase. Valores obtidos com o método MP2.

Nucleobases-Mg ²⁺										
	d_{Mg} (4 Å)					d_{Mg} (6 Å)				
	<u>Ade</u>	<u>Cyt</u>	<u>Gua</u>	<u>Thy</u>	<u>Ura</u>	<u>Ade</u>	<u>Cyt</u>	<u>Gua</u>	<u>Thy</u>	<u>Ura</u>
A	0,83 (0,82)	0,56 (0,51)	1,20 (1,16)	0,36 (0,34)	1,97 (1,98)	0,90 (0,91)	0,42 (0,41)	1,09 (1,10)	0,24 (0,22)	0,23 (0,22)
B	1,03 (1,01)	0,65 (0,60)	0,74 (0,74)	1,75 (1,70)	1,70 (1,62)	0,97 (0,98)	0,45 (0,44)	0,87 (0,88)	0,34 (0,32)	0,32 (0,29)
C	0,94 (0,92)	0,79 (0,70)	0,84 (0,85)	0,43 (0,40)	1,79 (1,76)	0,97 (0,97)	0,60 (0,58)	0,92 (0,93)	0,27 (0,25)	0,59 (0,56)
D	0,98 (0,93)	0,72 (0,74)	0,76 (0,77)	0,54 (0,44)		0,96 (0,97)	0,57 (0,56)	0,85 (0,87)	0,35 (0,32)	
E		0,89 (0,94)					0,63 (0,62)			
F		1,56 (1,52)					0,43 (0,42)			
G		0,83 (0,76)					0,63 (0,62)			

^a Os valores entre parênteses representam as cargas de Mulliken.

Tabela 2.7 – Carga atômica parcial ChelpG, do magnésio e dos átomos pertencentes ao sítio de interação na nucleobase livre e nos complexos nucleobases-Mg²⁺ com o Mg(II) fixado a 4 e 6 Å de distância do sítio de interação.

Método	Magnésio a 4 Å					Magnésio a 6 Å				
		Adenina-Mg ²⁺					Adenina-Mg ²⁺			
	Mg	N7*	C5	C6	N6*	Mg	N7*	C5	C6	N6*
HF	1,22	-0,79	0,24	0,65	-0,62	1,08	-0,67	0,18	0,72	-0,72
Ade ^a		-0,61	-0,70	0,87	-1,01		-0,61	-0,70	0,87	-1,01
B3LYP	1,06	-0,66	0,18	0,56	-0,44	0,99	-0,59	0,12	0,62	-0,55
Ade ^a		-0,59	-0,01	0,74	-0,95		-0,59	-0,01	0,74	-0,95
MP2	0,98	-0,64	0,19	0,61	-0,50	0,96	-0,63	0,1	0,73	-0,72
Ade ^a		-0,60	-0,01	0,75	-0,95		-0,60	-0,01	0,75	-0,95
		Guanina-Mg ²⁺					Guanina-Mg ²⁺			
	Mg	N7*	C5	C6	O6	Mg	N7*	C5	C6	O6*
HF	1,36	-0,80	0,11	0,80	-0,60	1,12	-0,68	0,16	0,81	-0,54
Gua ^a		-0,57	-0,08	0,90	-0,65		-0,57	-0,08	0,90	-0,65
B3LYP	1,10	-0,67	0,14	0,68	-0,48	1,00	-0,59	0,15	0,71	-0,45
Gua ^a		-0,56	0,00	0,76	-0,59		-0,56	0,00	0,76	-0,59
MP2	0,76	-0,63	0,29	0,63	-0,38	0,85	-0,61	0,24	0,69	-0,40
Gua ^a		-0,59	-0,01	0,77	-0,58		-0,59	-0,01	0,77	-0,58
		Citosina-Mg ²⁺					Citosina-Mg ²⁺			
	Mg	N3*	C2	O2*		Mg	N3*	C2	O2*	
HF	1,90	-1,27	1,43	-0,91		1,42	-0,93	1,18	-0,64	
Cyt ^a		-0,97	1,20	-0,76			-0,97	1,20	-0,76	
B3LYP	1,24	-0,91	1,08	-0,58		1,13	-0,77	1,04	-0,48	
Cyt ^a		-0,84	1,05	-0,69			-0,84	1,05	-0,69	
MP2	1,56	-1,17	1,36	-0,73		0,63	-0,62	0,94	-0,23	
Cyt ^a		-0,86	1,07	-0,68			-0,86	1,07	-0,68	
		Timina-Mg ²⁺					Timina-Mg ²⁺			
	Mg	N3	C4	O4*		Mg	N3	C4	O4*	
HF	1,56	-0,68	0,87	-0,65		1,39	-0,71	0,82	-0,58	
Thy ^a		-0,78	0,92	-0,65			-0,78	0,92	-0,65	
B3LYP	1,46	-0,49	0,76	-0,44		1,12	-0,60	0,68	-0,47	
Thy ^a		-0,67	0,77	-0,59			-0,67	0,77	-0,59	
MP2	0,54	-0,46	0,51	-0,34		0,35	-0,64	0,55	-0,32	
Thy ^a		-0,72	0,79	-0,57			-0,72	0,79	-0,57	
		Uracila-Mg ²⁺					Uracila-Mg ²⁺			
	Mg	N3	C4	O4*		Mg	N3	C4	O4*	
HF	1,93	-0,76	1,11	-0,74		1,51	-0,74	0,94	-0,61	
Ura ^a		-0,81	1,06	-0,69			-0,81	1,06	-0,69	
B3LYP	1,40	-0,57	0,87	-0,45		1,19	-0,61	0,76	-0,47	
Ura ^a		-0,69	0,89	-0,62			-0,69	0,89	-0,62	
MP2	1,70	-0,66	1,01	-0,57		0,32	-0,55	0,49	-0,26	
Ura ^a		-0,73	0,91	-0,61			-0,73	0,91	-0,61	

^a Valores de carga dos átomos do centro de interação na nucleobase livre.

* Átomos que interagem diretamente com o Mg²⁺.

A Tabela 2.7, mostra os valores de carga atômica parcial, ChelpG, do átomo de magnésio e dos átomos pertencentes ao sítio ativo das nucleobases, que interagem diretamente com o cátion(*), nos complexos nucleobases-Mg²⁺. As configurações

selecionadas são aquelas que interagem com dois centros, como mostradas na Figura 2.1: Adenina-Mg²⁺ (D), Guanina-Mg²⁺ (D), Citosina-Mg²⁺ (F), Timina-Mg²⁺ (D) e Uracila-Mg²⁺ (B).

As cargas ChelpG foram obtidas em três diferentes níveis de teoria, HF, B3LYP e MP2, com o conjunto de base 6-31+G*. Quando as cargas dos átomos são comparadas, no complexo nucleobase-Mg²⁺ com o Mg²⁺ posicionado a 4 e a 6 Å, verifica-se uma diminuição na densidade de carga no cátion Mg para os complexos com o magnésio a 6 Å, indicando uma maior transferência de carga para esses complexos. As maiores mudanças observadas foram para as pirimidinas; no complexo citosina-Mg²⁺ a carga do Mg, obtida com HF, vai de 1,90 e, a 4 Å, para 1,42 e a 6 Å, representando uma diminuição de densidade de carga de ~25%; no complexo timina-Mg²⁺, para o B3LYP, essa diminuição fica em torno de 23%, indo de 1,46 e para 1,12 e. Porém a maior variação é observada para o método MP2 no complexo uracila-Mg²⁺, com a carga do Mg indo de 1,70 e, a 4 Å, para 0,32 e a 6 Å, representando uma variação de ~81% .

Pode-se analisar as polarizações que ocorrem nas nucleobases comparando as cargas dos átomos que interagem diretamente com o cátion (*), no complexo, com a carga desses átomos nas nucleobases livres (indicadas por *a*). Nas purinas (adenina e guanina) observa um aumento nas polarizações dos átomos, N7, que interagem diretamente com o cátion, tanto no complexo a 4 ou 6 Å. As maiores polarizações foram observadas para a Guanina-Mg²⁺ a 4 Å. Nas pirimidinas, exceto para o complexo citosina-Mg²⁺, observa uma ligeira polarização no O4, para o complexo com o Mg fixado a 4 Å e uma diminuição da densidade de carga nos mesmo átomos para o complexo com o Mg fixado a 6 Å.

Foram observadas pequenas variações nas cargas, em função dos 3 métodos estudados; para os complexos com o Mg a 6 Å, os maiores valores de carga foram obtidos com o método HF e os menores valores foram obtidos com o método MP2. Os valores de carga obtidos com o MP2 devem ser avaliados utilizando outros métodos, como, por exemplo, o CCSD(T); uma vez que o MP2 não mostrou uma tendência bem definida, apresentando as menores e maiores variações.

b) *Sistemas com geometria otimizada*

Para assegurar a geometria do mínimo, a otimização foi iniciada a partir de diferentes configurações (Figura 2.1). Em muitos casos, diferentes pontos de partida levaram a uma única geometria de mínimo. Este comportamento pode ser observado, especialmente, no caso do complexo guanina-Mg²⁺, no qual a otimização das configurações A, B, C e D levou a uma única configuração de energia mínima, como mostrado na Figura 2.2, que é semelhante à geometria D (Figura 2.1). Comportamento similar pode ser observado para outros complexos, comparando-se a Figura 2.1, que apresenta as geometrias iniciais, com a Figura 2.2, nas quais estão representadas as geometrias otimizadas, possíveis mínimos dos complexos.

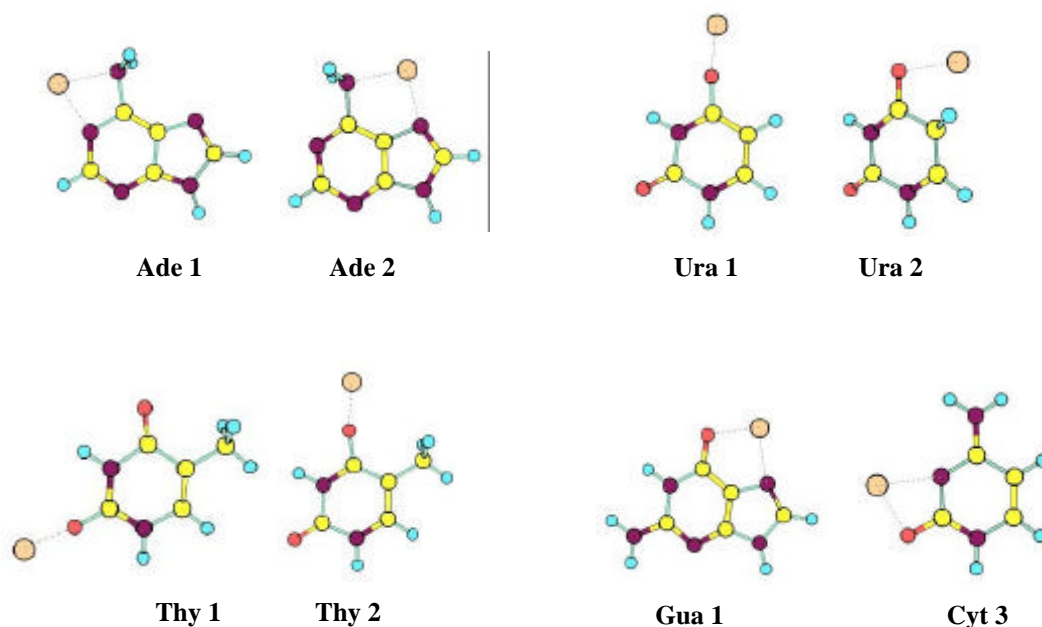


Figura 2.2 – Geometrias dos complexos nucleobase-Mg²⁺, otimizadas no nível HF/6-31+G*.

Na Tabela 2.8, estão apresentados os valores das energias de interação para as geometrias mais estáveis dos complexos nucleobase-Mg²⁺. As maiores energias foram obtidas com o método B3LYP, enquanto que, para a geometria fixa, o método MP2 apresentou as maiores energias de estabilização (em relação ao B3LYP).

Tabela 2.8 - Energia de interação, em kcal mol⁻¹, dos complexos nucleobase-Mg²⁺, das geometrias mais estáveis

Energia de interação nucleobases-Mg ²⁺			
Sistema	HF	B3LYP	MP2
Ade 1	-152,75	-165,03	-127,93
Ade 2	-157,00	-168,80	-132,93
Cyt 1	-112,13	-122,53	-92,83
Cyt 2	-156,74	-164,42	-134,77
Cyt 3	-187,34	-190,98	-158,66
Gua 1	-195,11	-206,74	-163,45
Thy 1	-132,82	-135,28	-101,59
Thy 2	-126,10	-145,26	-109,17
Ura 1	-132,54	-140,93	-109,74
Ura 2	-116,87	-129,11	-97,28

A Figura 2.3 mostra as geometrias de energia mínima dos complexos nucleobase-Mg²⁺, avaliadas no nível de teoria HF. Para todas as geometrias, o Mg²⁺ está no mesmo plano da molécula. Apenas o comprimento e ângulo de ligação foram analisados. Como as geometrias dos complexos são planares, ângulos diedros não sofreram variações significativas. As geometrias das nucleobases isoladas e das nucleobases nos complexos diferem consideravelmente.

Quando as duas nucleobases purínicas (adenina e guanina) são comparadas, observa-se que as distâncias intermoleculares na nucleobase adenina são mais curtas do que as distâncias correspondentes na guanina. O que também pode ser observado nos complexos adenina-Mg²⁺ e guanina-Mg²⁺. Isto pode estar associado ao fato de um dos sítios de interação da guanina, o oxigênio O6, ser um centro de atração mais forte do que o sítio de atração correspondente, N4, da adenina; o que pode ser verificado pela distância Mg²⁺--O6 (1.94 Å) ser mais curta do que a distância Mg²⁺--N4 (2.15 Å). A interação das nucleobases adenina e guanina com o Mg²⁺ leva a uma diminuição do tamanho do anel de 6 membros, sendo mais acentuada no complexo guanina-Mg²⁺; o anel de 5 membros, por outro lado, não sofre variações consideráveis. Para a interação do Mg²⁺ com as nucleobases pirimidínicas (citosina, timina e uracila), há uma diminuição considerável do anel de 6 membros.

O comprimento da ligação Mg²⁺--O pode ser avaliado para as interações de um centro e de dois centros. Para as interações de um centro, o comprimento da ligação

Mg^{2+} --O observado foi de 1,79 Å para a timina (Mg^{2+} --O4) e uracila (Mg^{2+} --O4). Quando o Mg^{2+} se coordena simultaneamente a dois centros de interação, guanina (O6 e N7) e citosina (O2 e N3), o comprimento da ligação Mg^{2+} --O pode ser até 0,17 Å maior (Mg^{2+} --O2 = 1,93 Å e Mg^{2+} --O6=1,96 Å). O comprimento da ligação Mg --O, no óxido de magnésio (MgO), por sua vez, é de 2,106 Å. Além de considerar que o Mg^{2+} está interagindo com dois centros, deve-se levar em conta o ângulo formado entre o Mg^{2+} e estes dois centros (O6- Mg^{2+} -N7 = 91,1 ° e O2- Mg^{2+} -N3 = 66,5 °).

O comprimento da ligação Mg^{2+} --N, que pode ser observada apenas em interações com dois centros, possui valores superiores a 2 Å, e não mostra dependência significativa em relação ao ângulo: O6- Mg^{2+} -N7 = 91,1 ° com a distância Mg^{2+} --N7 = 2,06 Å e O2- Mg^{2+} -N3 = 66,5 ° com a distância Mg^{2+} --N3 = 2,10 Å. O comprimento da ligação entre os átomos que interagem diretamente com o Mg^{2+} e seus vizinhos subseqüentes aumenta consideravelmente, se comparado com a nucleobase livre. O maior aumento chega a 0,12 Å para a ligação N6-C6, no complexo adenina- Mg^{2+} , e a 0,10 Å, para a ligação C4-O4 nos complexos timina- Mg^{2+} e uracila- Mg^{2+} (Figura 2.3). As geometrias dos mesmos complexos, avaliadas no nível B3LYP, mostram um aumento nos ângulos e comprimentos das ligações. O fato de um átomo passar a fazer uma nova ligação com o metal faz com que parte dos seus elétrons seja agora deslocada das ligações com seus vizinhos para a nova ligação, o que resulta em um enfraquecimento e no conseqüente alongamento destas ligações.

A geometria do complexo timina- Mg^{2+} , avaliada ao nível B3LYP, mostra o magnésio em uma posição espacial diferente daquela observada para o nível HF.

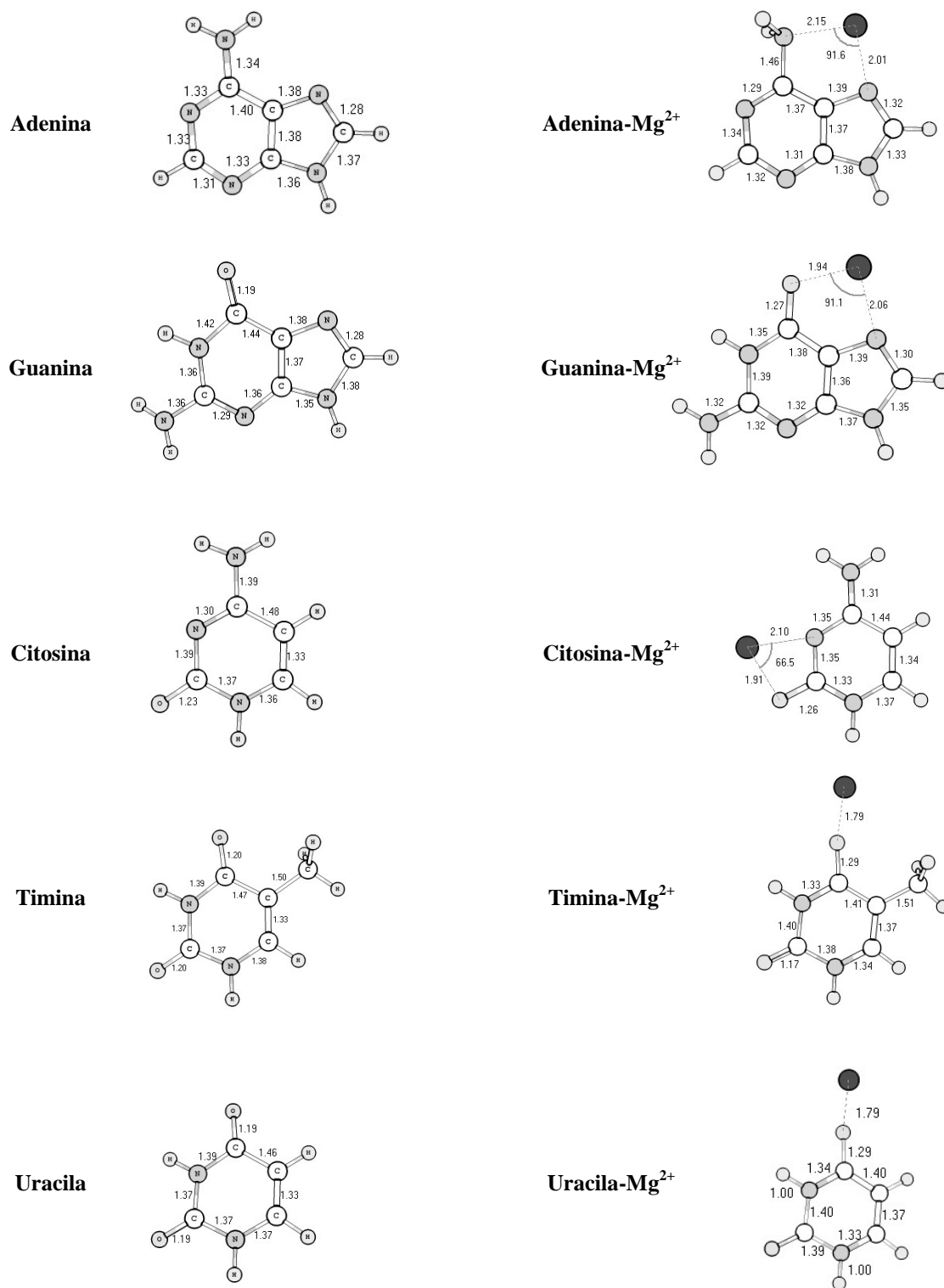


Figura 2.3 – Parâmetros geométricos. Comprimento e ângulo de ligação - das nucleobases isoladas e das nucleobases no complexo com o Mg²⁺. As geometrias, tanto da nucleobase livre quanto do complexo, foram otimizadas no nível HF.

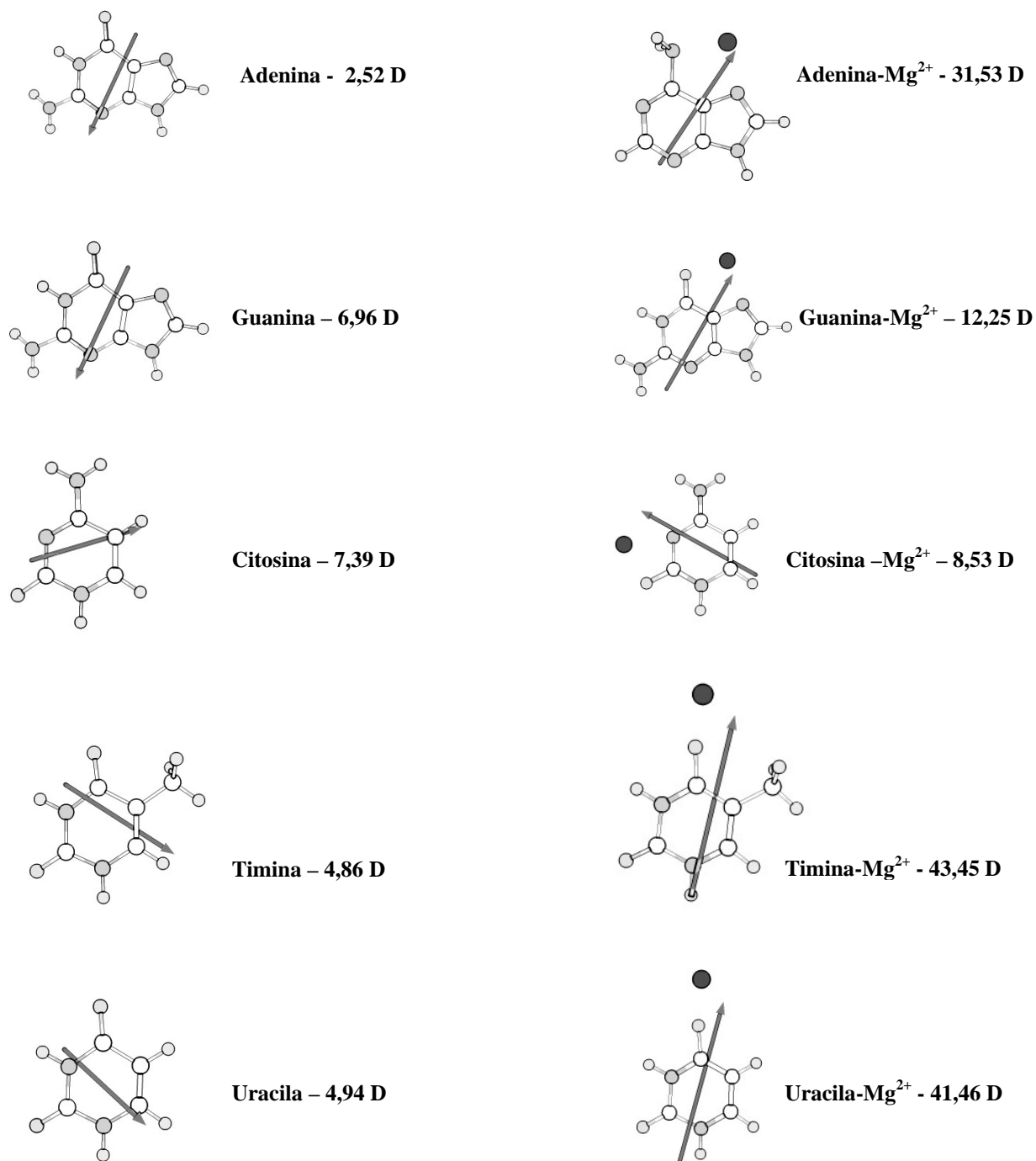


Figura 2.4 - Geometrias de menor energia dos complexos nucleobase-Mg²⁺, obtidas no nível HF/6-31+G*. As setas indicam a magnitude e direção do dipolo na nucleobase isolada e na nucleobase complexada com o Mg²⁺. Os números indicam o valor do dipolo (Debye).

A Figura 2.4 mostra as nucleobases livres com geometria HF/6-31+G*, e complexadas com o cátion Mg²⁺, otimizadas no mesmo nível de cálculo. Os dipolos,

nos dois casos, foram calculados com *single point* HF/6-31+G*. Pode-se identificar uma grande polarização da nucleobase pelo cátion, através da mudança na direção e magnitude do dipolo, comparando-se o sistema complexado e a nucleobase livre. O dipolo, no complexo, aponta sempre para a direção do cátion, independentemente da sua direção na nucleobase livre. A presença do cátion aumenta consideravelmente a magnitude do dipolo; os maiores aumentos observados foram para os complexos Timina-Mg²⁺ e Uracila-Mg²⁺, nos quais a interação da nucleobase com o cátion se dá através do átomo O4, um forte centro de interação dessas duas nucleobases.

Tabela 2.9 - Carga atômica parcial, ChelpG (em e), do magnésio e dos átomos do sítio de interação das nucleobases, na geometria no mínimo de energia obtidas no nível HF (Figura 2.3)

Método	Nucleobase Livre				Nucleobase-Mg ²⁺				
		Adenina				Ade 2			
	N6	C6	C5	N7	Mg	N6*	C6	C5	N7*
HF	-1,01	0,88	-0,08	-0,61	1,70	-1,25	0,78	-0,19	-0,90
B3LYP	-0,90	0,74	-0,03	-0,58	1,61	-1,20	0,68	-0,13	-0,80
MP2	-0,96	0,76	0,01	-0,61	1,65	-1,24	0,68	-0,09	-0,81
	Guanina				Gua 1				
	N7	C5	C6	O6	Mg	N7*	C5	C6	O6*
HF	-0,58	-0,09	0,91	-0,66	1,72	-0,92	-0,29	0,77	-0,77
B3LYP	-0,55	0,04	0,71	-0,58	1,62	-0,82	-0,13	0,51	-0,65
MP2	-0,59	0,02	0,77	-0,58	1,66	-0,82	-0,09	0,52	-0,67
	Citosina				Cyt 3				
	N3	C2	C4	O2	Mg	N3*	C2	C4	O2*
HF	-0,97	1,20	1,19	-0,76	1,76	-1,38	1,19	1,49	-0,85
B3LYP	-0,86	1,02	1,08	-0,68	1,66	-1,20	0,98	1,26	-0,74
MP2	-0,86	1,08	1,03	-0,69	1,70	-1,23	0,97	1,28	-0,76
	Timina				Thy 2				
	O4	C4	C5	N3	Mg	O4*	C4	C5	N3
HF	-0,65	0,92	-0,22	-0,78	1,90	-1,22	1,23	-0,49	-0,80
B3LYP	-0,58	0,73	-0,12	-0,64	1,68	-0,77	0,55	-0,19	-0,35
MP2	-0,58	0,80	-0,15	-0,72	1,73	-0,81	0,58	-0,17	-0,40
	Uracila				Ura 2				
	O4	C4	C5	N3	Mg	O4*	C4	C5	N3
HF	-0,69	1,06	-0,60	-0,81	1,91	-1,28	1,43	-0,89	-0,87
B3LYP	-0,61	0,85	-0,46	-0,66	1,84	-1,18	1,15	-0,64	-0,66
MP2	-0,61	0,92	-0,49	-0,74	1,88	-1,22	1,15	-0,63	-0,67

* Átomos que interagem diretamente com o Mg²⁺.

A Tabela 2.9 relaciona as cargas parciais dos átomos, pertencentes ao sítio de interação, na nucleobase livre com a nucleobase complexada. As cargas ChelpG

foram obtidas em três diferentes níveis de teoria, HF, B3LYP e MP2, para as geometrias otimizadas em HF/6-31+G* (Figura 2.3). Quando as cargas dos átomos são comparadas, na nucleobase livre e na complexada, verifica-se um aumento na densidade de carga daqueles que estão interagindo diretamente com o cátion (*). As maiores mudanças observadas foram para o complexo Uracila-Mg²⁺. As polarizações dos átomos que interagem diretamente com o Mg²⁺ oscilam entre 9% (para O2 da Cyt 3) e 14% (O6 da Gua 1) até 93% (O4 da Ura 2), com o restante dos átomos apresentando polarizações próximas a 35%. A carga do Mg²⁺ oscila de ~1,6 e (Ade 2) até ~1,9 e (Ura 2), um aumento na densidade de carga no átomo O4 e uma diminuição no C4, ligado diretamente ao O4. Foram observadas pequenas variações nas cargas, em função dos 3 métodos estudados, sendo que, em geral, o método HF superestima ligeiramente as cargas, um fato já conhecido na literatura.

3.2.3 - Conclusões

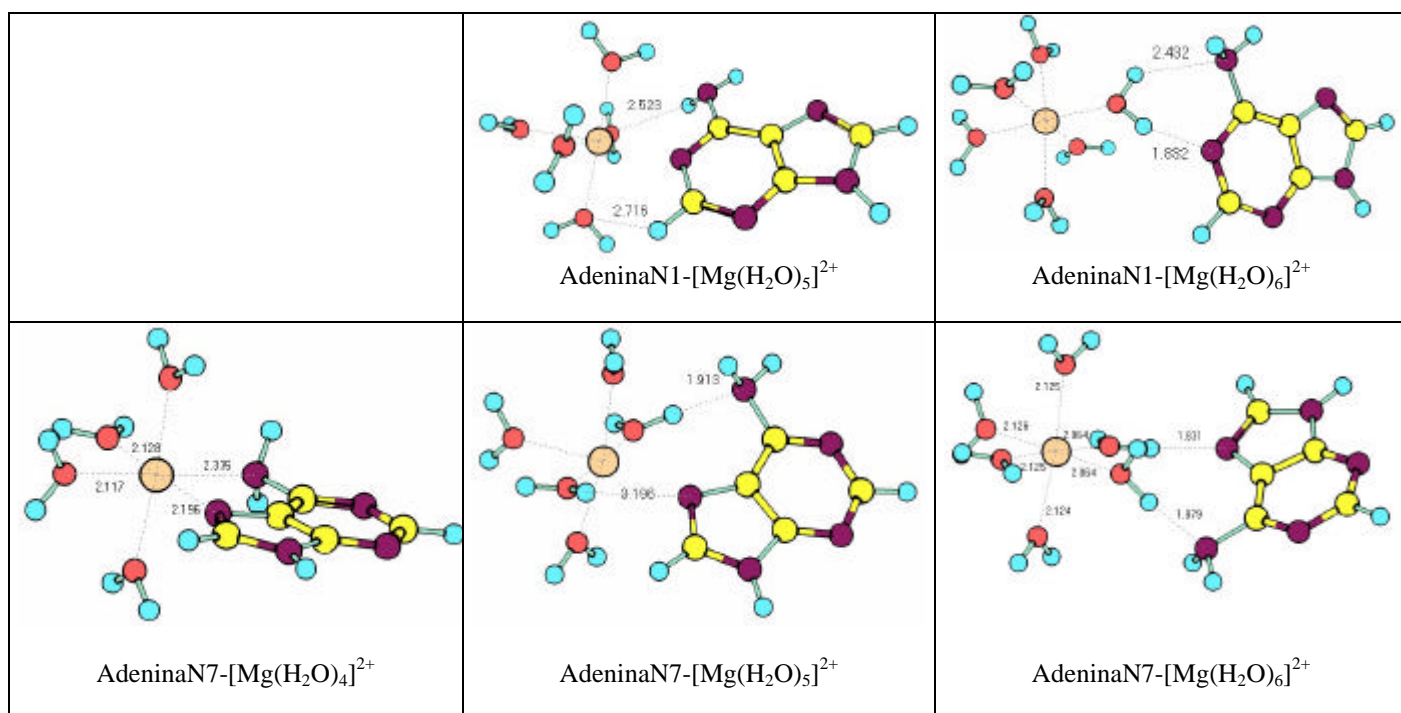
Nos sistemas nucleobases-Mg²⁺, com a geometria fixa, os métodos HF e B3LYP apresentaram a mesma tendência para o cálculo de energia de interação do sistema. Na análise dos valores de carga, as transferências mais significativas ocorreram para as interações mais estáveis, sendo que o método mais sensível para esse efeito de transferência de carga foi o MP2. Para os sistemas com a geometria otimizada as maiores energias de estabilização foram observadas com o método B3LYP. Os valores de carga obtidos mostram que a complexão do Mg²⁺ causa uma forte polarização na nucleobase, aumentando em até 10 vezes a magnitude do dipolo, no complexo, em relação à nucleobase livre. Essa polarização, certamente contribui para a formação e estabilidade de pontes de hidrogênios, nos ácidos nucleicos.

3.3 - Estudo das interações das nucleobases com $[\text{Mg}(\text{H}_2\text{O})_n]^{2+}$ e com $(\text{H}_2\text{O})_n$

3.3.1 Os sistemas estudados e nível de cálculo

O sistema estudado

Cálculos foram realizados para os complexos nucleobase- $[\text{Mg}(\text{H}_2\text{O})_n]^{2+}$ e nucleobase- $(\text{H}_2\text{O})_n$. Os sistemas nucleobase- $[\text{Mg}(\text{H}_2\text{O})_n]^{2+}$ foram construídos selecionando-se os sítios ativos que conduziram às configurações mais estáveis obtidas no item 2, e posicionando-se o Mg^{2+} , hidratado com 4, 5 ou 6 moléculas de H_2O , próximo a estes sítios ativos, conforme dados da literatura.²⁰ Para cada complexo, adenina- $[\text{Mg}(\text{H}_2\text{O})_n]^{2+}$, citosina- $[\text{Mg}(\text{H}_2\text{O})_n]^{2+}$, guanina- $[\text{Mg}(\text{H}_2\text{O})_n]^{2+}$, timina- $[\text{Mg}(\text{H}_2\text{O})_n]^{2+}$ e uracila- $[\text{Mg}(\text{H}_2\text{O})_n]^{2+}$, foram geradas, inicialmente, configurações com n igual a 4, 5 e 6; em seguida, essas configurações foram submetidas à otimização total, no nível HF, com o conjunto de base 6-31+G*. As conformações obtidas estão apresentadas na Figura 3.1.



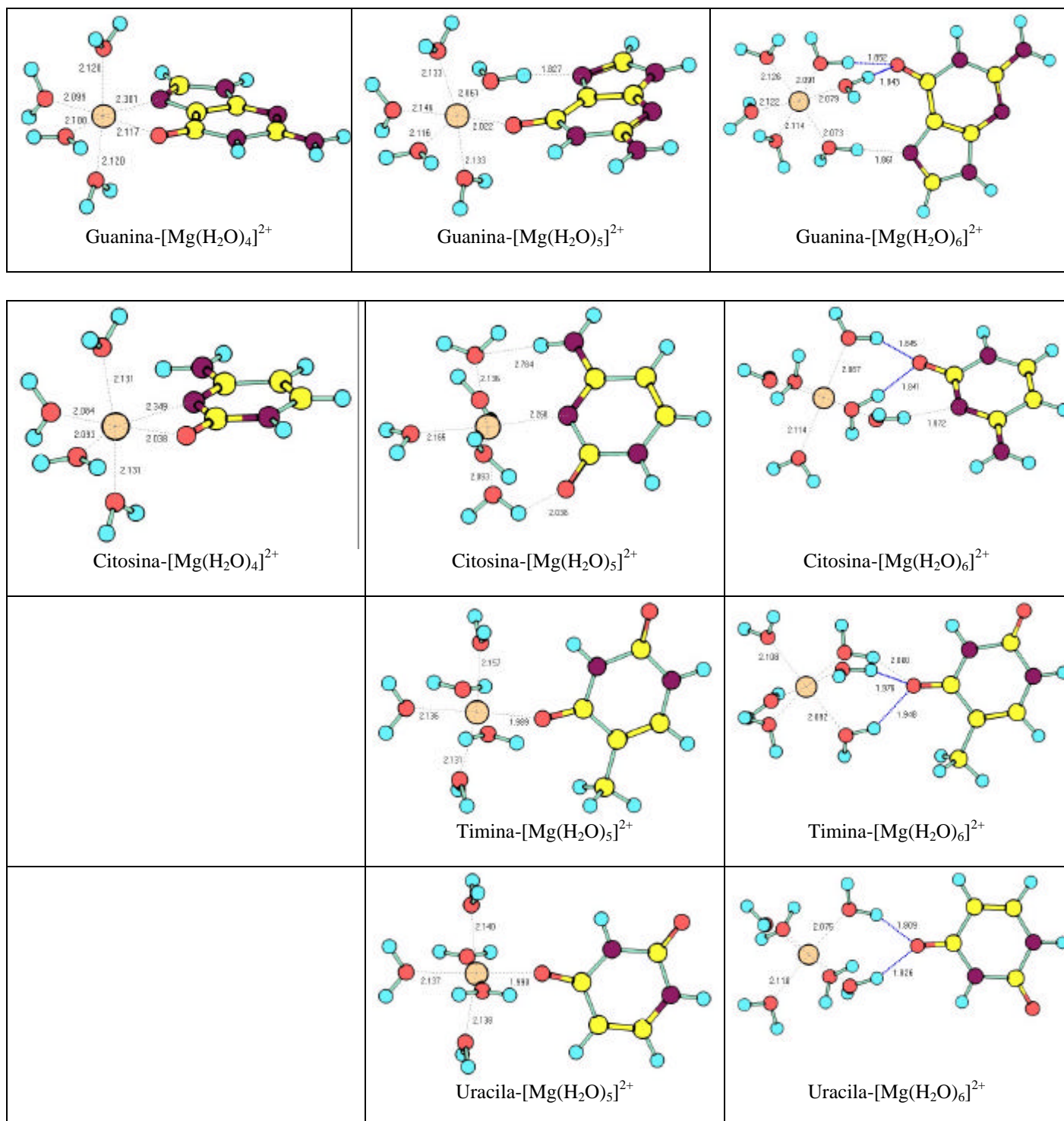


Figura 3.1 – Conformações dos complexos nucleobases-[Mg(H₂O)_n]²⁺ obtidas após otimizações HF/6-31+G*.

As configurações AdeninaN1-[Mg(H₂O)₄]²⁺, Timina-[Mg(H₂O)₄]²⁺ e Uracila-[Mg(H₂O)₄]²⁺ não alcançaram convergência em suas otimizações.

Os sistemas nucleobase-(H₂O)_n foram obtidos a partir das conformações otimizadas dos complexos nucleobase-[Mg(H₂O)₆]²⁺ onde o Mg²⁺ e as moléculas de H₂O que não interagiram diretamente com a nucleobase foram retiradas. Essas conformações, apenas com as águas de hidratação, foram mantidas fixas, Figura 3.2.

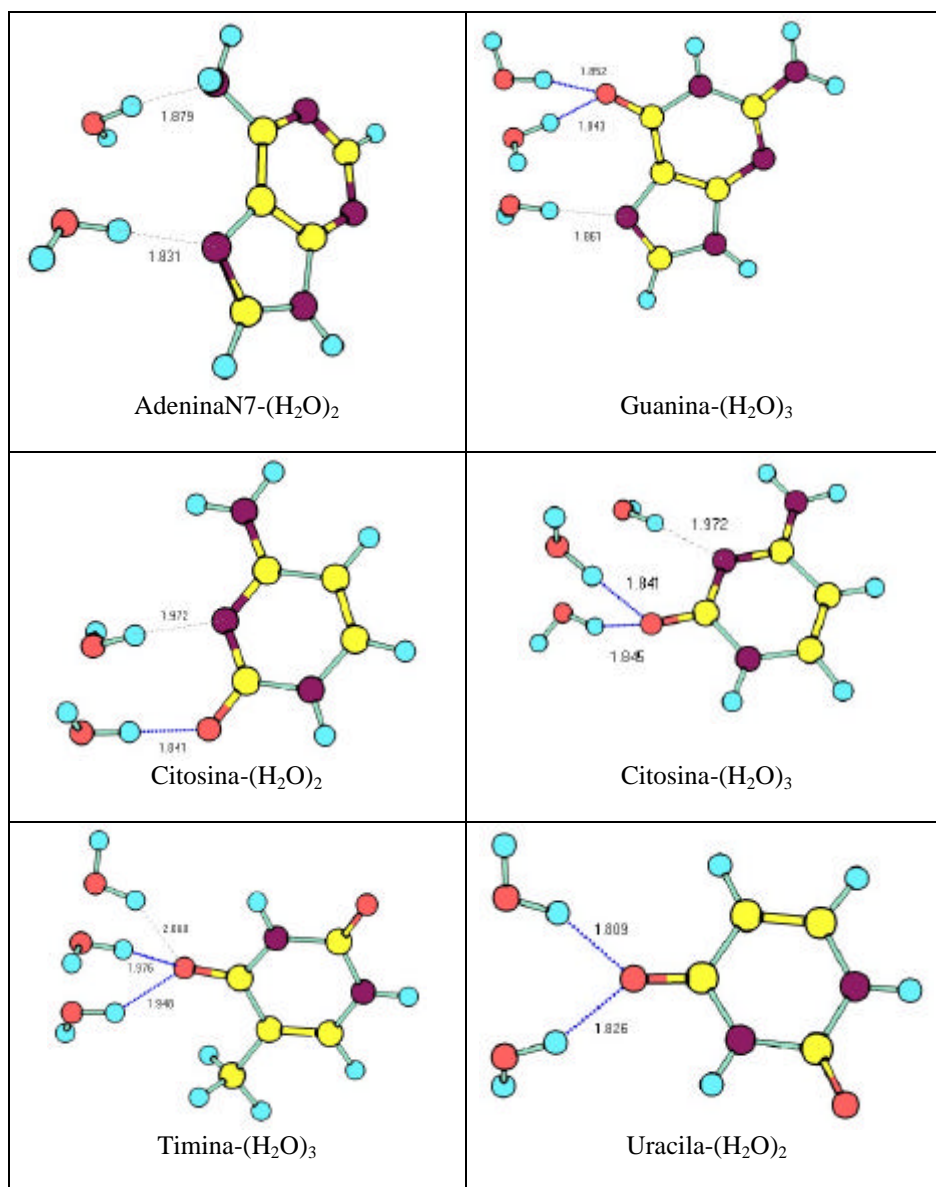


Figura 3.2 – Conformação dos complexos nucleobase-(H₂O)_n obtidas com otimizações HF/6-31+G*

Nível de cálculo

Os cálculos *ab initio* foram realizados utilizando-se o programa Gaussian98⁶³. Para efeito de comparação, foram realizados cálculos semi-empíricos e com campos de força utilizando-se os programas Spartan⁶² e Hyperchem.⁶⁸

As energias de interação, hidratação e efeitos de muitos corpos foram avaliados utilizando-se os métodos HF, B3LYP, B3PW91, BP e MP2, no nível *ab initio*; os campos de Força MMFF94,⁶⁹ Amber96,^{70,71,72} MM+,⁷³ OPLS,^{74,75,76} para a mecânica molecular; e, MNDO-d,^{77,78,79} PM3⁸⁰ e ZINDO-1,⁸¹ e AM1,⁸², no nível semi-empírico.

Os cálculos *ab initio* foram realizados utilizando-se os conjuntos de base 6-31+G*, 6-311++G(2d,2p) para HF, B3LYP, B3PW91 e MP2, com a opção *tight*, como critério de convergência para o ciclo SCF. Todos os elétrons foram incluídos no tratamento da correlação eletrônica para o MP2. Para os cálculos BP, foram utilizadas as bases DN* e DN**.

3.3.2 Resultados e análise

3.3.2.1 – O complexo $[\text{Mg}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$ - Estudo de bases, campos de força e métodos semi-empíricos

Antes de iniciar o estudo dos sistemas de interesse, mostrados nas Figuras 3.1 e 3.2, um estudo de convergência de bases foi realizado com Mg^{2+} hidratado, $[\text{Mg}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$. Isto foi necessário devido ao novo tipo de interação presente, $\text{H}_2\text{O} \cdots \text{Mg}^{2+}$, não visto anteriormente.

Para este estudo, testamos alguns campos de força clássicos, usualmente empregados em simulações de Dinâmica Molecular e Monte Carlo. Também, alguns métodos semi-empíricos foram testados. Estes últimos, embora utilizem uma abordagem quântica para o cálculo das propriedades moleculares, assumem uma série de aproximações na solução das equações Hatree-Fock tornando os cálculos muito mais rápidos do que nos métodos *ab initio*, porém, nem sempre levando a bons resultados.

Assim como os campos de força, métodos semi-empíricos não podem ser usados com confiança sem antes validá-los com cálculos *ab initio* e/ou dados experimentais nos sistemas de interesse.

Em relação ao estudo de convergência das bases para o complexo $[\text{Mg}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$ (Tabela 3.1), a variação máxima na energia, de acordo com os métodos HF, B3LYP e B3PW91, foi de 9 kcal.mol⁻¹. A variação observada para o MP2 foi de 21,0 kcal.mol⁻¹, o que mostra maior sensibilidade com a base. Em termos percentuais, essa variação vai de 3% da energia do complexo com a base maior (HF, B3LYP e B3PW91) até 7% no caso do MP2.

Considerando-se o efeito das três primeiras bases (Tabela 3.1), a variação para o HF, B3LYP e B3PW91 foi de, no máximo, 2 kcal.mol⁻¹, enquanto a mesma variação para o MP2 assumiu o valor de 13 kcal.mol⁻¹, o que torna evidente, para todos os métodos, a diferença entre o grupo formado pelas três primeiras e as duas últimas bases, de alto momento angular. A variação máxima para o segundo grupo de bases (HF e B3LYP) foi de 1.6 kcal.mol⁻¹; neste sistema, dominado por forças coulômbicas, o efeito de correlação é mínimo, observado pelas energias obtidas com os métodos HF e pós-HF. Concluí-se que a base mínima recomendada para cálculos de energia com HF ou funcional de densidade seria a 6-311++G(2d,2p). O MP2 não é recomendado, visto que não traz nenhum benefício em termos de qualidade a um custo computacional quase 5 vezes superior aos demais.

Dentre os métodos presentes no Spartan, pBP e BP, com as funções de bases numéricas DN* e DN**, a conclusão a que se chegou é que a base DN** é mais adequada, uma vez que a energia obtida com ela é semelhante àquela obtida com as bases maiores através dos métodos HF, B3LYP e B3PW91 (Tabela 3.1 e Tabela 3.2). A diferença entre os métodos pBP e BP foi de 2,6 kcal.mol⁻¹, representando ~0,8 % da energia do complexo, com o tempo de cálculo diferindo entre os métodos por um fator de 2 a 3. É importante ressaltar que os tempos de cálculos nos métodos do Spartan foram 10 vezes inferiores aos métodos tradicionais com a função de base 6-311++G(2d,2p), apresentando a mesma qualidade em termos de energia para o sistema estudado (Tabela 3.1).

As conclusões anteriores se referem à comparações de energia entre métodos e bases, mantendo-se a geometria fixa. Resta saber, portanto, o efeito de métodos e bases na geometria do complexo. Para isso, pode se analisar a Tabela 3.3. Na metodologia tradicional (HF e B3LYP), uma alteração no método e base, de HF/6-31+G* para B3LYP/6-311++G(2d,2p), leva à mudança entre a distância Mg--O de 2,110 Å para 2,102 Å (variação menor do que 0,01Å), a um custo 10 vezes superior no tempo de cálculo. Em relação aos métodos do Spartan, a alteração de pBP/DN** para BP/DN** altera a distância Mg--O de 2,104 Å para 2,106 Å (variação menor do que 0,002 Å) e eleva o tempo de cálculo em apenas 3 vezes. Nesse sistema, a geometria pode ser otimizada com o método HF/6-31+G* ou pBP/DN**; no último caso, com um custo computacional inferior, não justificando o uso da base de alto momento angular.

Tabela 3.1 - Estudo de convergência da base para o complexo $[\text{Mg}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$. Energia de interação, ΔE , em kcal/mol

Conjunto de base	$\Delta E(\text{HF})$	tempo(min)	$\Delta E(\text{B3LYP})$	tempo(min)	$\Delta E(\text{B3PW91})$ (a)	$\Delta E(\text{MP2})$	tempo(min)
631+G*	-323,9	3	-325,1	5	-317,2	-341,2	14
631++G**	-323,4	6	-324,5	10	-316,02	-333	30
6311++G**	-322,2	12	-323,2	15	-315	-328,3	54
6311++G(2d,2p)	-316	26	-317,1	33	-308,5	-320	140
6311++G(3df,3dp)	-315,8	104	-318,7	146			

Notas: (a) Tempos similares ao observado com o cálculo B3LYP//HF/6-31+G*

Geometria fixa HF/6-31+G* $d[\text{O}--\text{Mg}] = 2.11 \text{ \AA}$

Tempos obtidos no Gaussian 98 A.9 (Athlon XP 2000+ 256 MB)

Tabela 3.2 - Estudo de bases para o complexo $[\text{Mg}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$, utilizando os métodos BP e pBP.

Conjunto de base	<i>pBP//HF/6-31+G*</i>		<i>BP//HF/6-31+G*</i>	
	$\Delta E(\text{pBP})$	tempo(min)	$\Delta E(\text{BP})$	tempo(min)
DN*	-340,41	1		
DN**	-310,59	1,2	-313,23	2,5

Notas: Tempos referentes a Single Point pBP obtidos no PC Spartan pro (P4 1.9GHz, RAM 1Gb, PCChips)

Os valores ΔE , em kcal/mol se referem à energia de interação do complexo.

Geometria fixa HF/6-31+G* $d[\text{O}--\text{Mg}] = 2.11 \text{ \AA}$

Tabela 3.3 - Estudo de bases para o complexo $[\text{Mg}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$. Energia de interação, ΔE , em kcal/mol

conjunto de base	<i>pBP//pBP</i>			BP//BP/DN**			B3LYP//B3LYP/6-31++G(2d,2p)		
	$\Delta E(\text{pBP})$	tempo(min)	d[O--Mg] Å	$\Delta E(\text{BP})$	tempo(min)	d[O--Mg] Å	$\Delta E(\text{B3LYP})$	tempo(min)	d[O--Mg] Å
DN*	-338,05	1	2,102						
DN**	-308,59	1,2	2,104	312,6	4,3	2,106			
6-311++G(2d,2p)							318,2	33	2,102

Nota: Tempos referentes a Single Point pBP obtidos no PC Spartan pro (P4 1.9GHz, RAM 1Gb, PCChips)

Tempo (min)
d[O--Mg] Å

Para efeitos de comparação foram testados 4 campos de força, MMFF 94, AMBER96, MM+ e OPLS (Tabela 3.4). Quanto à energia do complexo, na geometria HF/6-31+G*, a diferença máxima observada, em relação aos valores *ab initio*, foi menor do que 50 kcal.mol⁻¹, exceto para o MM+ (80 kcal.mol⁻¹). Todos os campos de força utilizados subestimaram a energia do complexo. Nos campos de força MM+ e MMFF, foram empregados os parâmetros originais de van der Waals do Mg²⁺. Para o OPLS e o AMBER, os parâmetros do Mg²⁺ foram otimizados de maneira a se tentar aproximar, o máximo possível, à geometria e à energia *ab initio* deste complexo. O MMFF utiliza suas próprias cargas parciais atômicas. Para os demais, foram adotadas as cargas ChelpG B3LYP/6-311++G(2d,2p) para a água isolada. O Mg recebeu uma carga 2+ em todos os campos de força.

Na análise da partição de energia, observa-se que a parte coulômbica domina a energia do complexo, representando, em média, 90% da energia total. Na geometria utilizada, a energia de van der Waals foi repulsiva, variando de 6 a 44 kcal.mol⁻¹, em função de variações nos parâmetros de van der Waals utilizados em cada um dos métodos.

Em relação à geometria otimizada do complexo, foi observada uma variação na distância O--Mg²⁺ de 1,89 Å (MM+) a 2,08Å (MMFF), sendo que os valores mais próximos aos valores *ab initio* (2,10 Å) foram os do AMBER e MMFF. Todos os campos de força, com exceção do MMFF, apresentaram distâncias mais curtas que aquelas obtidas com os métodos *ab initio*. Com a geometria otimizada em cada campo de força, a diferença máxima na energia foi de 44 kcal.mol⁻¹ para o MM+, e inferior a 25 kcal mol⁻¹ para os demais.

Em relação aos métodos semi-empíricos, com geometria HF/6-31+G*, os melhores resultados de energia foram obtidos com o MNDO-d, e apresentaram uma diferença de ~20 kcal mol⁻¹ em relação aos métodos *ab initio* (Tabela 3.5). Quanto à geometria, os melhores resultados também foram do MNDO-d, com a distância O--Mg²⁺ decrescendo de 2,13 Å (MNDO-d) para 2,10Å (*ab initio*), uma diferença de ~0,03 Å. O método PM3 apresentou resultados razoáveis; o ZINDO-1, porém, é totalmente inadequado.

Tabela 3.4 - Energia de interação, ΔE , do complexo $[\text{Mg}-(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$, obtidas com campos de força, para diferentes geometrias

Geometrias fixas HF/6-31+G* $d[\text{O}--\text{Mg}] = 2.11 \text{ \AA}$					Geometrias dos complexos otimizadas nos respectivos campos de força Geometrias das H_2O iguais as otimizadas nos complexos				
Complexo	MMFF94	AMBER96	MM+	OPLS	Complexo	MMFF94	AMBER96	MM+	OPLS
Mg-6H ₂ O	-270,27	-268,45	-237,6	-264,03	$[\text{Mg}-6\text{H}_2\text{O}]^{2+}$	-288,12	-290,44	-263,67	-305,6
6xH ₂ O	2,06	1,96	1,68	13,02	6xH ₂ O	6,98	4,19	12,1	0,63
Mg ²⁺	0	0	0	0	Mg ²⁺	0	0	0	0
$\Delta E(\text{kcal/mol})$	-272,33	-270,41	-239,28	-277,05	$\Delta E(\text{kcal/mol})$	-295,1	-294,63	-275,77	-306,23
E. van der Waals		12,4	43,53	5,76	E. van der Waals		35,83	90,98	36,82
E. Coulomb		-282,81	-282,81	-282,81	E. Coulomb		-330,46	-366,75	-343,05
Parâmetros de vdW (Mg ²⁺)					$d[\text{O}--\text{Mg}] (\text{\AA})$	2,08	1,97	1,89	1,905
R		1,1 (a)	2,2	1,7 (a)					
E		0,015 (b)	0,015	0,015 (b)					

Notas: Cálculos com MMFF94, obtidos no SpartanPro. Cálculos MM+ e OPLS obtidos no HyperChem

(a) Foi otimizado para aproximar ao máximo do resultado B3LYP/6-311++G(2d,2p)//HF/6-31+G*

(b) Fixado no mesmo Valor do MM+

Tabela 3.5 - Energia de interação, ΔE , do complexo $[\text{Mg}-(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$, obtidas com métodos semi-empíricos, para diferentes geometrias

Geometrias fixas HF/6-31+G* $d[\text{O}-\text{Mg}] = 2.11 \text{ \AA}$				Geometrias, do complexo e águas isoladas, otimizadas em cada método			
Complexo	MNDO-d	PM3	ZINDO-1	Complexo	MNDO-d	PM3	ZINDO-1
Mg-6H ₂ O	-48956,24	-45184,16	-69179,2	Mg-6H ₂ O	-48960,2	-45259,5	-69273,6
6xH ₂ O	-8103,25	-7492,17	-11436,7	6xH ₂ O	-8104,22	-7492,69	-11444,1
Mg ²⁺	0	0	0	Mg ²⁺	0	0	0
$\Delta E(\text{kcal/mol})$	-336,74	-231,14	-558,86	$\Delta E(\text{kcal/mol})$	-334,89	-303,33	-608,86
				$d[\text{O}-\text{Mg}] \text{ \AA}$	2,13	1,87	2,24

Nota: Cálculos semi-empíricos obtidos no HyperChem

3.3.2.2 – Complexos Adenina-[Mg(H₂O)₆]²⁺ e Adenina-(H₂O)₂ - Estudo de bases e BSSE

Para se conhecer melhor o sistema a ser estudado, e definir uma metodologia de cálculo adequada, realizamos um estudo de convergência de base e efeito BSSE, utilizando dois sistemas; um com a nucleobase adenina interagindo com o Mg²⁺ hidratado, Adenina-[Mg(H₂O)₆]²⁺, e outro com a adenina interagindo com duas moléculas de água, Adenina-(H₂O)₂.

Pode-se observar que para o complexo Adenina-[Mg(H₂O)₆]²⁺ os valores de energias não sofreram grandes variações com o aumento da base, se comparados com a magnitude do valor das energias de interações para o complexo (Tabela 3.6). O mesmo pode ser considerado sobre o efeito BSSE, indicando que esse efeito não é tão importante, uma vez que representa em torno de 3 % do valor da energia de interação. Já, para o complexo Adenina-(H₂O)₂, cuja energia de interação é pequena, justifica o uso de uma base maior, para minimizar o efeito BSSE. Além disso, os efeitos de correlação, relativamente pequenos para o complexo com o Mg²⁺, são importantes para Adenina-(H₂O)₂. O método MP2, parece superestimar os valores de energia dos complexos, o que pode ser verificado comparando os valores **a** e **b**, de $\Delta E(\text{MP2})$, na Tabela 3.6.

A Tabela 3.6 mostra os valores de energia de interação, com e sem correção BSSE, obtidos utilizando vários conjuntos de base. Como era de se esperar, uma análise do BSSE (Tabela 3.6) indicou que esse erro diminuiu com o aumento da base. Entre os métodos HF e DFT, o BSSE observado para a maior base variou de -0,7 a -0,9 kcal.mol⁻¹. Para a base menor, a variação observada foi de -1,8 a -2,8 kcal.mol⁻¹. É importante observar que o método de correção do BSSE utilizado permite apenas estimar o valor do erro real de superposição de base e, de maneira alguma, pode ser utilizado como substituto de um estudo de convergência da base.

Tabela 3.6 - Estudo de convergência da base e efeito BSSE para os complexos Adenina-[Mg(H₂O)₆]²⁺ e adenina-(H₂O)₂.

<i>complexo</i>		$\Delta E(\text{HF})$			$\Delta E(\text{B3LYP})$			$\Delta E(\text{B3PW91})$			$\Delta E(\text{MP2})$		
		a	b	<i>d</i> (bsse)	a	b	<i>d</i> (bsse)	a	b	<i>d</i> (bsse)	a	b	<i>d</i> (bsse)
Ade-[Mg(H ₂ O) ₆] ²⁺	6-31+G*	-34,57	-37,00	-2,43	-38,99	-40,83	-1,84	-38,05	-39,96	-1,90	-38,60	-44,86	-6,26
	6-31+G**	-35,00	-36,50	-1,50	-39,39	-40,55	-1,16	-38,58	-39,78	-1,20	-39,22	-44,29	-5,08
	6-311+G*	-34,79	-36,60	-1,81	-39,26	-40,75	-1,49	-38,40	-40,04	-1,64	-38,61	-43,55	-4,93
	6-311+G**	-34,87	-36,15	-1,28	-39,27	-40,26	-0,99	-38,46	-39,59	-1,13	-39,36	-43,38	-4,03
	6-311++G*	-34,79	-36,68	-1,90	-39,27	-40,84	-1,57	-38,40	-40,12	-1,72	-38,64	-43,88	-5,25
	6-311++G(2d,2p)	-34,53	-35,41	-0,88	-39,12	-39,81	-0,69	-38,36	-39,14	-0,78	-40,33	-43,77	-3,43
Ade-(H ₂ O) ₂	6-31+G*	-2,22	-4,97	-2,75	-5,85	-8,33	-2,48	-5,06	-7,58	-2,52	-5,36	-11,19	-5,84
	6-31+G**	-2,66	-4,52	-1,87	-6,24	-8,00	-1,76	-5,56	-7,36	-1,80	-6,05	-11,09	-5,05
	6-311+G*	-2,39	-5,13	-2,74	-6,08	-8,78	-2,70	-5,36	-8,20	-2,84	-5,37	-11,41	-6,04
	6-311+G**	-2,48	-4,10	-1,62	-6,10	-7,68	-1,58	-5,41	-7,10	-1,69	-6,20	-10,54	-4,34
	6-311++G*	-2,38	-5,11	-2,74	-6,08	-8,83	-2,74	-5,36	-8,22	-2,86	-5,39	-11,59	-6,20
	6-311++G(2d,2p)	-2,06	-2,97	-0,91	-5,82	-6,70	-0,88	-5,16	-6,09	-0,93	-7,10	-10,33	-3,23

Notas: Os valores ΔE , em kcal/mol, se referem a energia de interação dos complexos.

a- com correção bsse

b- sem correção bsse

3.3.2.3 – Complexos nucleobases-[Mg(H₂O)_n]²⁺ - Bases mínima e de alto momento angular, campos de força e métodos semi-empíricos.

Os resultados obtidos com os estudos anteriores mostraram que não se justifica trabalhar com as bases intermediárias a 6-31+G* e 6-311++G(2d,2p). Assim, neste estudo são comparados os resultados dessas duas bases para poder estabelecer uma relação entre qualidade dos resultados e custo computacional. As geometrias dos complexos estudados são HF/6-31+G*.

Em relação ao uso das bases 6-31+G* e 6-311++G(2d,2p), a maior diferença de energia do complexo, observada para o método HF, foi de 3,0 kcal.mol⁻¹ (~4%) para o complexo Cyt-[Mg(H₂O)₅]²⁺. Em todos os outros casos, a diferença foi inferior a 0,5 kcal.mol⁻¹. Para o B3LYP, a maior diferença observada foi de 1,5 kcal.mol⁻¹ (~2%) para o mesmo complexo. Para o MP2, as diferenças observadas foram, em geral, um pouco maiores, porém não ultrapassaram o valor de 2,5 kcal.mol⁻¹. Para o método pBP/DN**, que se mostrou adequado para o complexo [Mg(H₂O)₆]²⁺, foram observadas variações de até 15 kcal.mol⁻¹, em relação aos valores B3LYP, não se mostrando confiável para estimar as energias nos sistemas aqui estudados. Para os sistemas nucleobase-[Mg(H₂O)_n]²⁺, não se justifica o uso de uma base maior para o cálculo das energias em função do maior custo computacional (até 7 vezes superior). Os métodos B3LYP ou HF são mais recomendados que o MP2, uma vez que apresentaram qualidade semelhante e uma considerável diferença no tempo de cálculo (Tabela 3.7).

A variação das cargas no Mg foi avaliada na metodologia pBP/DN** ChelpG. Estas cargas são similares às B3LYP/6-311++G(2d,2p). A carga ChelpG encontrada no complexo [Mg(H₂O)₆]²⁺ foi de 1,88 e (Mulliken +1,22 e) na geometria HF/6-31+G*. Nos complexos nucleobases-[Mg(H₂O)₆]²⁺, onde o Mg interage com 6 moléculas de H₂O, foram observadas variações ChelpG de 1,44 e (com Timina) a 1,66 e (com Adenina), com carga média de 1,5 e, uma redução de 21% relativa ao [Mg-(H₂O)₆]²⁺. As cargas de Mulliken mostraram variações menores, de 1,18 e a 1,20 e, uma redução média inferior a 3 % em relação ao [Mg(H₂O)₆]²⁺. Nos complexos nucleobases-[Mg(H₂O)₅]²⁺ a carga ChelpG média, foi, 1,5 e (Mulliken 1,20 e) mostrando diferenças muito pequenas em relação aos complexos nucleobases-[Mg(H₂O)₆]²⁺.

Nos complexos envolvendo apenas 4 moléculas de água, a carga ChelpG média foi menor, 1,2 e e as cargas de Mulliken foram todas iguais a 1,17 e. A variação geral das cargas de Mulliken, em todos os complexos com Mg foi pequena (de 1,17 e a 1,22 e), mostrando a baixa sensibilidade destas a mudanças no ambiente molecular, quando comparada às variações em cargas ChelpG, de 1,15 e a 1,88 e, que refletem de maneira mais apropriada as mudanças no potencial eletrostático em torno dos sistemas. Estas informações são importantes para a construção de campos de força polarizáveis, nos quais a carga parcial no metal muda conforme o ambiente em seu entorno.

Tabela 3.7- Energia de interação, ΔE , dos complexos nucleobases-[Mg(H₂O)_n]²⁺. Os valores são apresentados com correção BSSE.

Complexo	método/6-31+G**//HF/6-31+G*			método/6-311++G(2d,2p)//HF/6-31+G*				pBP/DN**//HF/6-31+G*
	HF	B3LYP	MP2	HF	B3LYP	B3PW91	MP2	
AdeN1-[Mg(H ₂ O) ₅] ²⁺	-1043,97	-1049,22	-1046,47	-1044,28	-1049,54	-1049,16	-1047,56	-1049,63
[Mg(H ₂ O) ₅] ²⁺	-579,35	-581,80	-580,35	-579,54	-581,99	-581,79	-580,98	-582,06
Ade	-464,53	-467,33	-466,02	-464,65	-467,46	-467,28	-466,48	-467,50
ΔE(kcal/mol)	-55,70	-57,41	-59,01	-55,62	-57,49	-56,31	-60,96	-42,17
AdeN1-[Mg(H ₂ O) ₆] ²⁺	-1120,01	-1125,66	-1122,70	-1120,36	-1126,03	-1125,61	-1123,89	
[Mg(H ₂ O) ₆] ²⁺	-655,44	-658,28	-656,63	-655,66	-658,52	-658,28	-657,36	
Ade	-464,53	-467,33	-466,02	-464,65	-467,46	-467,28	-466,48	
ΔE(kcal/mol)	-28,87	-32,07	-31,81	-28,78	-32,06	-31,56	-32,94	
tempo (min)	80,3	100,8		592,80	850,2			
AdeN7-[Mg(H ₂ O) ₄] ²⁺	-967,92	-972,76	-970,22	-968,20	-973,05	-972,69	-971,21	-973,13
[Mg(H ₂ O) ₄] ²⁺	-503,28	-505,31	-504,08	-503,43	-505,47	-505,30	-504,60	-505,54
Ade	-464,51	-467,31	-466,01	-464,63	-467,44	-467,26	-466,46	-467,48
ΔE(kcal/mol)	-84,36	-85,11	-86,71	-84,19	-85,10	-84,17	-88,02	-67,12
tempo (min)	259,6			481,6				
AdeN7-[Mg(H ₂ O) ₅] ²⁺	-1043,97	-1049,21	-1046,47	-1044,28	-1049,54	-1049,15	-1047,55	
[Mg(H ₂ O) ₅] ²⁺	-579,35	-581,79	-580,35	-579,54	-467,45	-581,79	-580,98	
Ade	-464,53	-467,33	-466,02	-464,65	-581,99	-467,27	-466,48	
ΔE(kcal/mol)	-55,55	-57,73	-59,10	-55,38	-57,82	-56,53	-61,10	
tempo (min)			1226,5				3308,9	
AdeN7-[Mg(H ₂ O) ₆] ²⁺	-1120,02	-1125,67	-1125,67	-1120,37	-1126,03	-1125,62	-1123,90	-1126,14
[Mg(H ₂ O) ₆] ²⁺	-655,44	-658,28	-658,28	-655,66	-658,51	-658,28	-657,36	-658,57
Ade	-464,53	-467,33	-467,33	-464,65	-467,46	-467,28	-466,48	-467,50
ΔE(kcal/mol)	-34,57	-38,99	-38,99	-34,53	-39,12	-38,36	-40,33	-43,01
Cyt-[Mg(H ₂ O) ₄] ²⁺	-896,06	-900,41	-898,06	-896,33	-900,69	-900,36	-898,99	-900,77
[Mg(H ₂ O) ₄] ²⁺	-503,27	-505,31	-504,08	-503,43	-505,47	-505,30	-504,60	-505,53
Cyt	-392,62	-394,94	-393,83	-392,73	-395,06	-394,90	-394,23	-395,10
ΔE(kcal/mol)	-104,39	-100,19	-100,23	-104,29	-100,38	-99,30	-101,34	-88,59
Cyt-[Mg(H ₂ O) ₅] ²⁺	-972,10	-976,86	-974,30	-972,39	-977,16	-976,80	-975,33	
[Mg(H ₂ O) ₅] ²⁺	-579,34	-581,78	-580,34	-579,53	-581,98	-581,78	-580,97	
Cyt	-392,63	-394,94	-393,83	-392,74	-395,06	-394,91	-394,23	
ΔE(kcal/mol)	-80,32	-78,99	-80,27	-77,31	-77,47	-76,03	-80,45	

Os tempos são referentes a cálculos realizados em P4 3.4GHz 1Gb RAM

Cyt-[Mg(H ₂ O) ₆] ²⁺	-1048,16	-1053,32	-1050,56	-1048,49	-1053,67	-1053,28	-1051,69	-1053,76
[Mg(H ₂ O) ₆] ²⁺	-655,43	-658,27	-656,62	-655,65	-658,50	-658,27	-657,35	-658,55
Cyt	-392,62	-394,94	-393,83	-392,74	-395,06	-394,91	-394,23	-395,10
Δ E(kcal/mol)	-67,53	-68,55	-67,44	-66,70	-68,25	-66,93	-68,46	-69,69
Gua-[Mg(H ₂ O) ₄] ²⁺	-1042,85	-1048,05	-1045,32	-1043,15	-1048,36	-1047,98	-1046,38	-1048,46
[Mg(H ₂ O) ₄] ²⁺	-503,28	-505,31	-504,08	-503,43	-505,48	-505,30	-504,60	-505,53
Gua	-539,40	-542,56	-541,08	-539,55	-542,72	-542,51	-541,61	-542,78
Δ E(kcal/mol)	-109,51	-107,45	-106,88	-109,87	-108,00	-106,78	-108,74	-94,60
tempo (min)								4,50
Gua-[Mg(H ₂ O) ₅] ²⁺	-1118,90	-1124,51		-1119,24	-1124,86	-1124,45	-1122,74	
[Mg(H ₂ O) ₅] ²⁺	-579,36	-581,80		-579,55	-582,00	-581,79	-580,98	
Gua	-539,41	-542,57		-539,55	-542,72	-542,51	-541,61	
Δ E(kcal/mol)	-89,38	-88,81		-89,84	-89,59	-87,88	-89,15	
Gua-[Mg(H ₂ O) ₆] ²⁺	-1194,94	-1200,96	-1197,81	-1195,32	-1201,34	-1200,90	-1199,08	-1201,46
[Mg(H ₂ O) ₆] ²⁺	-655,43	-658,27	-656,63	-655,65	-658,51	-658,27	-657,35	-658,56
Gua	-539,41	-542,57	-541,08	-539,55	-542,72	-542,51	-541,61	-542,78
Δ E(kcal/mol)	-68,77	-71,61	-69,20	-68,69	-71,81	-70,41	-71,01	-76,80
Thy-[Mg(H ₂ O) ₅] ²⁺	-1030,97	-1036,04	-1033,32	-1031,29	-1036,37	-1035,99	-1034,42	-1036,46
[Mg(H ₂ O) ₅] ²⁺	-579,36	-581,80	-580,36	-579,55	-582,00	-581,79	-580,98	-582,06
Thy	-451,52	-454,15	-452,87	-451,64	-454,28	-454,11	-453,34	-454,33
Δ E(kcal/mol)	-58,98	-57,24	-56,52	-59,19	-57,77	-56,16	-58,18	-43,84
tempo (min)								5,50
Thy-[Mg(H ₂ O) ₆] ²⁺	-1107,01	-1112,49	-1109,56	-1107,36	-1112,86	-1112,45	-1110,77	-1112,95
[Mg(H ₂ O) ₆] ²⁺	-655,42	-658,27	-656,62	-655,65	-658,50	-658,27	-657,35	-658,55
Thy	-451,52	-454,15	-452,87	-451,64	-454,28	-454,11	-453,34	-454,33
Δ E(kcal/mol)	-44,75	-46,34	-45,40	-44,21	-46,24	-44,82	-46,45	-46,24
Ura-[Mg(H ₂ O) ₅] ²⁺	-991,93	-996,72	-994,14	-992,24	-997,04	-996,67	-995,18	-997,13
[Mg(H ₂ O) ₅] ²⁺	-579,36	-581,80	-580,36	-579,55	-582,00	-581,79	-580,98	-582,06
Ura	-412,48	-414,83	-413,69	-412,59	-414,95	-414,79	-414,11	-415,00
Δ E(kcal/mol)	-59,68	-57,52	-56,47	-59,88	-58,06	-56,46	-58,11	-42,76
tempo (min)								4,00
Ura-[Mg(H ₂ O) ₆] ²⁺	-1067,97	-1073,17	-1070,38	-1068,31	-1073,53	-1073,13	-1071,53	-1073,63
[Mg(H ₂ O) ₆] ²⁺	-655,43	-658,27	-656,63	-655,66	-658,51	-658,27	-657,36	-658,56
Ura	-412,48	-414,83	-413,69	-412,59	-414,95	-414,79	-414,11	-415,00
Δ E(kcal/mol)	-41,04	-42,78	-40,82	-40,70	-42,79	-41,62	-41,87	-44,26

Nota: Para os cálculos pBP/DN** os tempos(min) são referentes ao máximo requerido para calcular a energia do complexo completo (S) em P4 1.9 GHz 1Gb RAM

Para os cálculos de energia na geometria HF/6-31+G*, nenhum dos métodos semi-empíricos analisados apresentou bons resultados (Tabela 3.8). As variações de energia, relativas aos cálculos *ab initio*, foram de 3 a 50 kcal mol⁻¹ (MNDO-d e PM3) e de 5 a 150 kcal mol⁻¹ (ZINDO-1), com as variações máximas assumindo valores da ordem de grandeza da energia do complexo. Embora o método MNDO-d tenha apresentado bons resultados para o complexo [Mg(H₂O)₆]²⁺, ele não pode ser aplicado com confiança para o estudo energético dos complexos envolvendo as nucleobases.

Nos campos de força, foram encontradas variações em relação aos resultados *ab initio* que oscilaram entre 1 e 150 kcal.mol⁻¹, com as maiores variações tendo sido observadas para o OPLS; os demais apresentaram variações máximas de até 40 kcal mol⁻¹ (Tabela 3.8). Embora os quatro campos de força tenham apresentado resultados razoáveis para o [Mg(H₂O)₆]²⁺, não podem ser aplicados com confiança para estudo dos complexos envolvendo as nucleobases.

Os complexos com geometrias HF/6-31+G* foram reotimizadas nos campos de força. As novas geometrias resultantes foram muito similares as *ab initio*, com variações, principalmente, nas distâncias intermoleculares. Na Tabela 3.8 estão listadas algumas energias para o campo de força MMFF, onde observamos concordância razoável com os dados *ab initio*. Isto leva a concluir que uma reparametrização dos campos de força de modo a reproduzir os dados *ab initio* poderia melhorar consideravelmente os resultados e talvez, até ser transferível a sistemas maiores, observando os limites impostos por efeitos de muitos corpos (EMC), que serão discutidos mais adiante.

Em relação aos métodos semi-empíricos estudados, as reotimizações levam, na maioria das vezes, a geometrias muito diferentes das *ab initio*. Em muitos casos, os complexos são 'desfeitos', mostrando a total inadequação destes métodos para os sistemas estudados. Somente estudos posteriores poderão responder se apenas uma reparametrização seria suficiente para melhorar seus resultados, ou se é necessária uma alteração nas funções paramétricas utilizadas. Após estes estudos, com os métodos reparametrizados, poderá ser estudada a transferibilidade a sistemas maiores e a capacidade em representar corretamente os efeitos de muitos corpos (EMC).

Tabela 3.8 - Energia de interação, ΔE , para os complexos nucleobases- $[\text{Mg}(\text{H}_2\text{O})_n]^{2+}$, obtidas com os métodos semi-empíricos e campos de força

<i>Complexo</i>	<i>Ab initio (a)</i>	<i>Semi-empíricos</i>			<i>Campos de força</i>				Geometrias MMFF94 <i>MMFF94</i>
		Geometrias fixas em HF/631+G*			Geometrias fixas em HF/631+G*				
		<i>MNDO-d</i>	<i>PM3</i>	<i>ZINDO-1</i>	<i>MMFF94</i>	<i>AMBER96</i>	<i>MM+</i>	<i>OPLS</i>	
AdeN1- $[\text{Mg}(\text{H}_2\text{O})_5]^{2+}$		-129,23	-114,41	-181,45	-266,79	-401,87	-391,26	-144,03	-313,70
$[\text{Mg}(\text{H}_2\text{O})_5]^{2+}$		-65,04	-60,02	-91,92	-227,85	-230,79	-207,05	-227,55	-248,91
Ade		-64,11	-54,36	-89,27	0,65	-121,77	-141,57	-23,57	4,22
$\Delta E(\text{kcal/mol})$	-56,3 a -60,9	-45,80	-22,90	-161,60	-39,59	-49,31	-42,64	107,09	-69,01
AdeN7- $[\text{Mg}(\text{H}_2\text{O})_4]^{2+}$		-116,31	-102,48	-163,24	-252,96	-362,45	-364,78	-125,12	-276,32
$[\text{Mg}(\text{H}_2\text{O})_4]^{2+}$		-52,06	-48,04	-73,58	-191,69	-192,86	-172,50	-86,34	-213,84
Ade		-64,10	-54,34	-89,25	11,29	-104,27	-137,84	-27,34	7,83
$\Delta E(\text{kcal/mol})$	-84,2 a -88,0	-93,20	-60,30	-252,20	-72,56	-65,32	-54,44	-11,44	-70,31
AdeN7- $[\text{Mg}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$		-142,13	-126,40	-199,59	-298,94	-421,27	-400,41	-331,99	-323,60
$[\text{Mg}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$		-78,02	-72,01	-110,24	-267,77	-227,05	-236,95	-271,03	-286,34
Ade		-64,11	-54,36	-89,27	0,71	-122,92	-147,95	-41,11	-1,71
$\Delta E(\text{kcal/mol})$	-34,5 a -40,3	-2,00	-26,50	-49,10	-31,88	-71,30	-15,51	-19,85	-35,55
Cyt- $[\text{Mg}(\text{H}_2\text{O})_4]^{2+}$		-108,27	-97,09	-152,20	-342,87	-598,22	-653,70	-396,70	-367,85
$[\text{Mg}(\text{H}_2\text{O})_4]^{2+}$		-52,06	-48,04	-73,58	-188,72	-190,94	-170,33	-189,68	-217,45
Cyt		-56,05	-48,90	-78,30	-82,34	-314,33	-412,44	-112,27	-86,44
$\Delta E(\text{kcal/mol})$	-104,2 a -99,3	-101,90	-89,00	-198,80	-71,81	-92,95	-70,93	-94,75	-63,96
Cyt- $[\text{Mg}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$		-134,08	-120,99	-188,67	-390,17	-634,67	-690,60	-426,92	-418,09
$[\text{Mg}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$		-78,00	-72,01	-110,24	-257,13	-267,57	-236,83	-262,48	-283,42
Cyt		-56,05	-48,90	-78,31	-84,08	-315,23	-404,13	-97,70	-86,86
$\Delta E(\text{kcal/mol})$	-66,7 a -68,4	-16,40	-46,20	-80,10	-48,96	-51,87	-49,64	-66,74	-47,81

Thy-[Mg(H ₂ O) ₅] ²⁺	-130,66	-118,76	-183,87	-358,14	-392,93	-379,39	-337,36	-381,51
[Mg(H ₂ O) ₅] ²⁺	-65,04	-60,02	-91,92	-228,33	-231,49	-207,51	-229,70	-252,98
Thy	-65,52	-58,68	-91,78	-89,97	-107,73	-135,74	-51,81	-94,01
Δ E(kcal/mol)	-56,2 a -59,2	-59,40	-39,20	-100,80	-39,84	-53,71	-36,14	-55,85
Thy-[Mg(H ₂ O) ₆] ²⁺	-143,54	-130,73	-202,10	-375,66	-405,81	-372,70	-346,94	
[Mg(H ₂ O) ₆] ²⁺	-78,01	-72,01	-110,24	-257,81	-268,26	-237,70	-264,96	
Thy	-65,52	-58,68	-91,79	-90,30	-108,14	-136,00	-52,20	
Δ E(kcal/mol)	-44,2 a -46,4	-6,70	-26,50	-51,50	-27,55	-29,41	1,00	-29,78
Ura-(MgH ₂ O) ₅] ²⁺	-124,91	-113,27	-175,96	-359,11				
[Mg(H ₂ O) ₅] ²⁺	-65,04	-60,02	-91,92	-228,42				
Ura	-59,77	-53,18	-83,88	-91,43				
Δ E(kcal/mol)	-56,5 a -58,1	-61,50	-42,10	-100,70	-39,26			
Ura-[Mg(H ₂ O) ₆] ²⁺	-137,79	-125,24	-194,20	-379,62	-476,18	-451,02	-363,27	
[Mg(H ₂ O) ₆] ²⁺	-78,01	-72,01	-110,24	-262,76	-272,61	-242,03	-268,46	
Ura	-59,77	-53,18	-83,88	-92,42	-176,20	-183,28	-40,57	
Δ E(kcal/mol)	-40,7 a -42,8	-6,30	-29,20	-52,10	-24,44	-27,37	-25,71	-54,24

(a) Faixa de valores de energia obtidos com os métodos *ab initio*/6-311++G(2d,2p)//HF/6-31+G* (Tabela 3.7)

Nota: O tempo máximo requerido para calcular a energia do complexo completo (SP)

em um P4 1.9 GHz 1 Gb de RAM foi menos de um minuto.

Semi-empíricos SP feitos no HyperChem6, demoram ~ 10 vezes menos que os pBP/DN**

Campos de força demoram ~ 100 vezes menos que os pBP/DN**

Cálculos pBP/DN** (SpartanPro) utilizam até 35Mbytes RAM para os complexos estudados.

As cargas para os campos de força OPLS, AMBER e MM+ foram as CHELPG

obtidas para as moléculas isoladas com (SP) B3LYP/6-311++G(2d,2p).

A geometria utilizada para as nucleobases foi pBP/DN* e para a H₂O foi B3LYP/6-311++G(2d,2p)

A carga do Mg foi 2+. No MMFF o próprio método atribui as cargas das bases e H₂O.

Campos de força OPLS, AMBER96 e MM+ são os implementados no HyperChem.

3.3.2.4 – Complexos nucleobases-(H₂O)_n - *ab initio*, campos de força e semi-empírico.

Para melhor avaliar o papel do Mg²⁺ na interação com as nucleobases, foi realizado um estudo da energia de hidratação desses sistemas, na ausência do cátion. Para efeito de comparação, utilizando a mesma metodologia usada para os complexos com o Mg²⁺; os valores das energias de hidratação foram calculados utilizando métodos *ab initio*, campos de força e semi-empíricos. Com base nos resultados do item anterior, para o complexo Adenina-(H₂O)₂, concluiu-se que é importante usar uma base maior para o cálculo de energia dos complexos nucleobases-(H₂O)_n; a base usada foi 6-311++G(2d,2p).

Nos valores de energia dos complexos nucleobase-(H₂O)_n - considerados sem a correção do BSSE, uma vez que os erros introduzidos pela estimativa do BSSE podem chegar a 10% do valor da energia de hidratação -, pode-se observar variações na energia de 1 a 3,7 kcal.mol⁻¹, entre os métodos HF e DFT (Tabela 3.9). Estas variações podem chegar a representar 56 % da energia de interação. Nestes sistemas, a energia de correlação é um componente importante e, portanto, deve ser considerada. Os métodos pBP/DN** apresentaram bons resultados, com variações máximas de energia não superiores a 1 kcal. mol⁻¹, em relação ao B3LYP/6-311++G(2d,2p) (Tabela 3.9). Os valores da última coluna da Tabela 3.9 se referem à geometrias dos complexos nucleobases-(H₂O)_n otimizados no método pBP/DN**. As pequenas mudanças nas energias quando comparadas a pBP/DN** na geometria HF/6-31+G* (quinta coluna da Tabela 3.9) mostram que as geometrias no nível pBP/DN** são similares às obtidas no nível HF/6-31+G*.

Todos os métodos semi-empíricos, incluindo o AM1, se mostraram inadequados para as energias de hidratação das nucleobases. É interessante observar algumas tendências: os métodos AM1 e MNDO-d apresentaram, na geometria HF/6-31+G*, energias positivas para as hidratações, indicando uma grande valorização da componente repulsiva, com o MNDO-d chegando a apresentar valores de energia 10 vezes maiores que o AM1; os métodos PM3 e ZINDO-1, por outro lado, apresentaram energias de hidratação negativas, tendo o PM3 subestimado em até

75% a energia de hidratação, enquanto o ZINDO-1, ao contrário, superestimou as energias em até 250% (Tabela 3.10)

Para o sistema com água, em geral, os campos de força estudados apresentaram valores de energia próximos aos valores *ab initio* (Tabela 3.10). Mas, em alguns casos, principalmente no OPLS, o termo repulsivo das interações de van der Waals dominou a energia de interação, com variações em relação aos valores *ab initio* de até 800%, indicando que este campo de força é muito sensível aos parâmetros de van der Waals.

As conclusões referentes às Tabelas 3.9 e 3.10 podem ser facilmente verificadas na Tabela 3.11, na qual estão resumidos os valores de energia dos complexos nucleobase- $[\text{Mg}(\text{H}_2\text{O})_n]^{2+}$ e os valores de energia de hidratação dos complexos nucleobase- $(\text{H}_2\text{O})_n$. Os resultados mostrados na Tabela 3.11, permite concluir que o método pBP/DN**, que mostrou divergência em relação ao B3LYP/6-311++G(2d,2p) nos complexos onde o Mg^{2+} interage diretamente com as nucleobases, aqui apresentam boa concordância.

Tabela 3.9 - Energia de hidratação, ΔE , para os complexos nucleobase-(H₂O)_n - métodos *ab initio*.

Complexo	método/6-311++G(2d,2p)//HF/6-31+G*				pBP/DN**//HF/6-31+G*	pBP/DN***/pBP/DN**
	HF	B3LYP	B3PW91	MP2		
Ade-(H ₂ O) ₂	-616,76	-620,39	-620,14	-619,12	-620,45	-620,44
2(H ₂ O)	-152,10	-152,92	-152,86	-152,63	-152,93	-152,92
Ade	-464,65	-467,46	-467,28	-466,47	-467,50	-467,51
ΔE(kcal/mol)	-2,97	-6,71	-6,09	-10,33	-6,06	-4,54
Cyt-(H ₂ O) ₂	-544,85	-547,99	-547,77		-548,04	-548,04
2(H ₂ O)	-152,11	-152,92	-152,86		-152,93	-152,93
Cyt	-392,74	-395,06	-394,90		-395,10	-395,10
ΔE(kcal/mol)	-5,13	-7,44	-6,56		-7,03	-8,17
Cyt-(H ₂ O) ₃	-620,90	-624,45	-624,20	-623,19	-624,51	-624,50
3(H ₂ O)	-228,15	-229,37	-229,28	-228,94	-229,39	-229,38
Cyt	-392,74	-395,06	-394,90	-394,23	-395,10	-395,10
ΔE(kcal/mol)	-7,51	-10,33	-9,22	-14,68	-9,17	-10,18
Gua-(H ₂ O) ₃	-767,71	-772,11	-771,80	-770,57	-772,19	-772,18
(H ₂ O) ₃	-228,15	-229,37	-229,28	-228,94	-229,39	-229,38
Gua	-539,55	-542,72	-542,51	-541,61	-542,78	-542,79
ΔE(kcal/mol)	-5,79	-9,30	-8,10	-13,64	-9,47	-6,84
Thy-(H ₂ O) ₃	-679,80	-683,66	-683,39	-682,29	-683,73	-607,26
3(H ₂ O)	-228,15	-229,37	-229,28	-228,94	-229,39	-152,93
Thy	-451,64	-454,28	-454,11	-453,34	-454,33	-454,33
ΔE(kcal/mol)	-5,47	-7,56	-6,36	-11,51	-6,59	-4,83
Ura-(H ₂ O) ₂	-564,70	-567,88	-567,88	566,74	-567,94	-567,93
2(H ₂ O)	-152,10	-152,92	-152,92	152,63	-152,93	-152,93
Ura	-412,59	-414,95	-414,95	414,11	-415,00	-415,00
ΔE(kcal/mol)	-2,92	-4,35	-4,35	6,27	-5,45	-4,34

Nota: Valores sem correção BSSE

Tabela 3.10 - Energia de interação, ΔE , dos complexos nucleobases-(H₂O)_n - métodos semi-empíricos e campos de força

Complexo	<i>Ab initio</i> (a)	<i>Semi-empíricos</i>				<i>Campos de força</i>				Geometrias MMFF94 <i>MMFF94</i>
		Geometrias fixas em HF/631+G*				Geometrias fixas em HF/631+G*				
		<i>MNDO-d</i>	<i>PM3</i>	<i>ZINDO-1</i>	<i>AM1</i>	<i>MMFF94</i>	<i>AMBER96</i>	<i>MM+</i>	<i>OPLS</i>	
Ade-(H ₂ O) ₂		-89,90	-78,23	-125,75	-89,59	-4,74	-128,14	-149,96	-37,40	-3,96
2(H ₂ O)		-25,82	-23,88	-36,45	-25,61	5,02	4,01	3,73	10,96	9,05
Ade		-64,11	-54,36	-89,27	-63,98	0,71	-122,92	-147,95	-41,11	-1,71
$\Delta E(\text{kcal/mol})$	-3,0 a -10,3	21,50	-1,50	-22,10	5,80	-10,47	-9,23	-5,74	-7,25	-11,30
Cyt-(H ₂ O) ₂ (b)		-81,84	-72,78	-114,78	-81,51	-86,36	-319,04	-406,80	-37,39	-85,18
2(H ₂ O)		-25,82	-23,88	-36,45	-25,62	4,83	3,78	3,25	3,58	8,26
Cyt		-56,05	-48,90	-78,31	-55,90	-84,08	-315,23	-404,13	-97,70	-86,86
$\Delta E(\text{kcal/mol})$	-5,1 a -7,4	20,20	-1,60	-17,50	2,00	-7,11	-7,59	-5,92	56,73	-6,58
Cyt-(H ₂ O) ₃		-94,73	-84,72	-133,01	-94,32	-76,30	-316,53	-404,81	2,49	-74,80
3(H ₂ O)		-38,72	-35,81	-54,67	-38,42	13,37	10,12	8,48	9,50	21,35
Cyt		-56,05	-48,90	-78,31	-55,90	-84,08	-315,23	-404,13	-97,70	-86,86
$\Delta E(\text{kcal/mol})$	-7,5 a -14,7	30,46	-2,47	-25,90	2,83	-5,59	-11,42	-9,16	90,69	-9,29
Gua-(H ₂ O) ₃		-114,63	-100,97	-160,98	-114,16	15,78				
3(H ₂ O)		-38,72	-35,81	-54,67	-38,42	13,49				
Gua		-75,96	-65,15	-106,27	-75,75	13,09				
$\Delta E(\text{kcal/mol})$	-7,8 a -13,6	31,40	-2,60	-27,40	5,30	-10,80				
Thy-(H ₂ O) ₃		-104,21	-94,49	-146,47	-103,73	-81,67	-102,60	-102,44	-41,23	
3(H ₂ O)		-38,72	-35,81	-54,66	-38,42	14,95	11,42	9,04	17,20	
Thy		-65,52	-58,68	-91,79	-65,31	-90,30	-108,14	-136,00	-52,20	
$\Delta E(\text{kcal/mol})$	-5,5 a -11,5	24,40	0,00	-15,30	-1,50	-6,32	-5,88	24,52	-6,23	
Ura-(H ₂ O) ₂		-85,55	-77,06	-120,35	-85,19	-92,66	-177,13	-183,55	49,76	
2(H ₂ O)		-25,82	-23,88	-36,45	-25,62	5,92	4,80	3,87	10,17	
Ura		-59,77	-53,18	-83,88	-59,58	-92,42	-176,20	-183,28	-40,57	
$\Delta E(\text{kcal/mol})$	-2,9 a -6,3	22,10	-2,70	-17,20	2,50	-6,16	-5,73	-4,14	80,16	

(a) Faixa de valores obtidos utilizando *ab initio*/6-311++G(2d,2p)//HF6-31+G* (Tabela 3.9)(b) Na hidratação com 2(H₂O) da citosina foram escolhidas as águas opostas, em lados contrários ao plano do anel

Tabela 3.11 - Energias de interação, ΔE (kcal/mol), dos complexos nucleobase-[Mg(H₂O)₆]²⁺ e nucleobase-(H₂O)_n - valores sem correção bsse.

		Ab initio									
		método/6-311++G(2d,2p)//HF/631+G*									
Complexo		HF	B3LYP	B3PW91	MP2	pBP/DN**					
AdeN7-[Mg(H ₂ O) ₆] ²⁺	ΔE (complexão)	-34,53	-39,12	-38,36	-40,33	43,01					
AdeN7-(H ₂ O) ₂	ΔE (hidratação)	-2,97	-6,71	-6,09	-10,33	-6,06					
Cyt-[Mg(H ₂ O) ₆] ²⁺	ΔE (complexão)	-66,70	-68,25	-66,93	-68,46	-69,69					
Cyt-(H ₂ O) ₂	ΔE (hidratação)	-5,13	-7,44	-6,56		-7,03					
Cyt-(H ₂ O) ₃	ΔE (hidratação)	-7,51	-10,33	-9,22	-14,68	-9,17					
Gua-[Mg(H ₂ O) ₆] ²⁺	ΔE (complexão)	-68,69	-71,81	-70,41	-71,01	-76,80					
Gua-(H ₂ O) ₃	ΔE (hidratação)	-5,79	-9,30	-8,10	-13,64	-9,47					
Thy-[Mg(H ₂ O) ₆] ²⁺	ΔE (complexão)	-44,21	-46,24	-44,82	-46,45	-46,24					
Thy-(H ₂ O) ₃	ΔE (hidratação)	-5,47	-7,56	-6,36	-11,51	-6,59					
Ura-[Mg(H ₂ O) ₆] ²⁺	ΔE (complexão)	-40,70	-42,79	-41,62	-41,87	-44,26					
Ura-(H ₂ O) ₂	ΔE (hidratação)	-2,92	-4,35	-4,35	6,27	-5,45					
		Semi-empíricos					Campos de força				
		Geometrias dos complexos fixas em HF/631+G*					Geometrias dos complexos fixas em HF/631+G*				Geometria MMFF94
Complexo		MNDO-d	PM3	ZINDO-1	AM1	MMFF94	AMBER96	MM+	OPLS	MMFF94	
AdeN7-[Mg(H ₂ O) ₆] ²⁺	ΔE (complexão)	-2,00	-26,50	-49,10		-31,88	-71,30	-15,51	-19,85	-35,6	
AdeN7-(H ₂ O) ₂	ΔE (complexão)	21,50	-1,50	-22,10	5,80	-10,47	-9,23	-5,74	-7,25	-11,3	
Cyt-[Mg(H ₂ O) ₆] ²⁺	ΔE (complexão)	-16,40	-46,20	-80,10		-48,96	-51,87	-49,64	-66,74	-47,8	
Cyt-(H ₂ O) ₂	ΔE (complexão)	20,20	-1,60	-17,50	2,00	-7,11	-7,59	-5,92	56,73	-6,6	
Cyt-(H ₂ O) ₃	ΔE (complexão)	30,46	-2,47	-25,90	2,83	-5,59	-11,42	-9,16	90,69	-9,3	
Gua-[Mg(H ₂ O) ₆] ²⁺	ΔE (complexão)	-16,00	-49,90	-83,60		-46,48					
Gua-(H ₂ O) ₃	ΔE (complexão)	31,40	-2,60	-27,40	5,30	-10,80					
Thy-[Mg(H ₂ O) ₆] ²⁺	ΔE (complexão)	-6,70	-26,50	-51,50		-27,55	-29,41	1,00	-29,78		
Thy-(H ₂ O) ₃	ΔE (complexão)	24,40	0,00	-15,30	-1,50	-6,32	-5,88	24,52	-6,23		
Ura-[Mg(H ₂ O) ₆] ²⁺	ΔE (complexão)	-6,30	-29,20	-52,10		-24,44	-27,37	-25,71	-54,24		
Ura-(H ₂ O) ₂	ΔE (complexão)	22,10	-2,70	-17,20	2,50	-6,16	-5,73	-4,14	80,16		

Nota: As cargas para os campos de forças são as mesmas utilizadas nos cálculos apresentados na Tabela 3.8

3.3.2.5 – Efeitos de Muitos Corpos (EMC)

Em muitas das situações nas quais é necessário o cálculo da energia de interação intermolecular, principalmente em sistemas que envolvem um grande número de átomos, a energia de interação pode ser aproximada pela soma das interações individuais entre todos os pares de átomos que compõem o sistema. Esta aproximação é usualmente adotada em campos de força clássicos, e não leva em consideração o efeito de outros átomos do sistema sobre a energia de interação da cada par analisado. Os métodos mecânicos quânticos, por não adotarem esta aproximação, permitem estimar a diferença da energia 'real' e daquela obtida pela soma das interações dos pares de subsistemas individuais. À esta diferença, dá-se o nome de *feito de muitos corpos* (EMC).

Nos complexos nucleobases- $[\text{Mg}(\text{H}_2\text{O})_n]^{2+}$, o EMC apresentou valores que oscilaram entre +57 e +74 kcal.mol⁻¹, representando de 54 a 83 % da energia 'real' do complexo (Tabela 3.12). No complexo $[\text{Mg}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$, o EMC variou de +102 a +122 kcal.mol⁻¹, representando de 32 a 39 % da energia real do complexo (Tabela 3.12). Para os complexos que não envolvem Mg^{2+} , a magnitude do EMC foi geralmente menor, representando de 10 a 26 % dos valores de energia para os métodos pós-HF, observando, mais uma vez, que os efeitos de correlação são importantes para estes sistemas (Tabela 3.13).

Para comparação foi incluído o EMC no trímero de água, $(\text{H}_2\text{O})_3$. Um fato interessante é que neste sistema, embora o EMC seja similar, em valores relativos, ao das energias pós-HF (~20 a 26 %), ele apresenta sinal negativo, ao contrário dos demais complexos. Sendo assim, o EMC pode tanto aumentar como reduzir as energias dos complexos em relação às somas das interações individuais. Este fato é importante pois ao utilizar um campo de força clássico, não polarizável, mesmo em sistemas com moléculas polares sem cátions metálicos, para calcular as diferenças de energias de interações intermoleculares os erros devidos a não considerar os EMC podem não ser cancelados e levar, em certas situações, a erros totais da ordem de 50% nas energias relativas.

De acordo com os resultados obtidos, torna-se evidente que qualquer aproximação para cálculos de energias desses sistemas envolvendo campos de força não polarizáveis está sujeita a erros de magnitude similar aos observados para o EMC.

Tabela 3.12 - Valores de EMC, em kcal/mol e %, para energia de interação dos complexos $[\text{Mg}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$ e nucleobases- $[\text{Mg}(\text{H}_2\text{O})_4]^{2+}$

Complexo	HF	B3LYP	B3PW9	MP2	
(a) $[\text{Mg}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$	6 x $[\text{Mg} \cdots \text{H}_2\text{O}]$	-75,90	-78,50	-76,05	-75,20
	3 x $[\text{H}_2\text{O} \cdots \text{H}_2\text{O}]$ cruzada	1,30	1,30	1,34	1,20
	12 x $[\text{H}_2\text{O} \cdots \text{H}_2\text{O}]$ lateral	2,80	2,30	2,76	1,80
	ΔE (Soma total) kcal/mol	-417,90	-439,50	-419,16	-426,00
	ΔE (Valor real) kcal/mol	-316,00	-317,10	-308,50	-320,00
	EMC (kcal/mol)	101,9	122,4	110,66	106,00
	EMC (%)	32	39	36	33
(b) Ade-Mg(H ₂ O) ₄	Ade-Mg	-164,90	-174,16	-170,18	-167,70
	Ade-1H ₂ O	4,89	4,27	4,81	2,46
	Ade-1H ₂ O	3,94	3,53	3,88	2,70
	Ade-1H ₂ O	4,07	3,62	3,89	2,72
	Ade-1H ₂ O	4,89	4,27	4,81	2,46
	ΔE (Soma total) kcal/mol	-147,11	-158,46	-152,78	-157,36
	ΔE (Valor real) kcal/mol	-85,71	-86,42	-85,56	-93,81
EMC (kcal/mol)	61,39	72,04	67,23	63,55	
EMC (%)	72	83	79	68	
(b) Cyt-Mg(H ₂ O) ₄	Cyt-Mg	-181,23	-185,10	-181,21	-177,72
	Cyt-1H ₂ O	5,62	4,66	5,13	3,10
	Cyt-1H ₂ O	3,72	3,24	3,43	2,41
	Cyt-1H ₂ O	3,82	3,10	3,59	2,08
	Cyt-1H ₂ O	5,63	4,66	5,14	3,10
	ΔE (Soma total) kcal/mol	-162,43	-169,45	-163,92	-167,02
	ΔE (Valor real) kcal/mol	-105,79	-101,66	-100,63	-106,75
EMC (kcal/mol)	56,64	67,79	63,29	60,27	
EMC (%)	54	67	63	56	
(b) Gua-Mg(H ₂ O) ₄	Gua-Mg	-194,96	-200,71	-196,67	-191,78
	Gua-1H ₂ O	5,81	4,90	5,46	3,01
	Gua-1H ₂ O	4,18	3,38	3,97	2,11
	Gua-1H ₂ O	4,60	4,11	4,34	3,22
	Gua-1H ₂ O	5,80	4,90	5,45	3,00
	ΔE (Soma total) kcal/mol	-174,57	-183,41	-177,45	-180,45
	ΔE (Valor real) kcal/mol	-111,47	-109,38	-108,21	-114,72
EMC (kcal/mol)	63,10	74,03	69,25	65,73	
EMC (%)	57	68	64	57	

Nota: Valores sem correção do bsse; (a) cálculos (SP) 6-311++G(2d,2p)//B3LYP/6-31G*; (b) cálculos (SP) 6-311++G(2d,2p)//HF/6-31+G*

Tabela 3.13 - Valores de EMC, em kcal/mol e %, para energia de interação dos complexos com (H₂O)₃ e nucleobases-(H₂O)_n

	Tipo de interação	HF	B3LYP	B3PW91	MP2
(a) (H ₂ O) ₃	A---B	-2,60	-4,25	-3,80	-4,60
	B---C	-2,60	-4,25	-3,80	-4,60
	A---C	-2,20	-3,70	-3,30	-4,00
	Δ E(Soma total) kcal/mol	-7,40	-12,20	-10,90	-13,20
	Δ E(Valor real) kcal/mol	-10,80	-15,50	-14,80	-16,60
	EMC kcal/mol	-3,40	-3,30	-3,90	-3,40
	EMC (%)	-31,0	-21	-26	-20
(b) Adenina-(H ₂ O) ₂	Adenina-1H ₂ O	-1,07	-2,81	-2,44	-4,71
	Adenina-1H ₂ O	-2,91	-5,05	-4,68	-6,62
	Δ E(Soma total) kcal/mol	-3,98	-7,87	-7,12	-11,33
	Δ E(Valor real) kcal/mol	-2,97	-6,71	-6,09	-10,33
	EMC kcal/mol	1,02	1,16	1,02	1,00
	EMC (%)	34	17	17	10
	(b) Citosina-(H ₂ O) ₃	Cyt-1H ₂ O	-2,35	-3,85	-3,40
Cyt-1H ₂ O		-3,60	-4,40	-3,75	-5,28
Cyt-1H ₂ O		-3,44	-4,39	-3,76	-5,35
Δ E(Soma total) kcal/mol		-9,38	-12,64	-10,91	-16,23
Δ E(Valor real) kcal/mol		-7,51	-10,33	-9,22	-14,68
EMC kcal/mol		1,88	2,31	1,69	1,55
EMC (%)		25	22	18	11
(b) Gua-(H ₂ O) ₃	Gua-1H ₂ O	-2,82	-3,65	-3,00	-4,51
	Gua-1H ₂ O	-2,39	-4,45	-4,04	-6,17
	Gua-1H ₂ O	-2,64	-3,60	-2,97	-4,70
	Δ E(Soma total) kcal/mol	-7,84	-11,69	-10,00	-15,38
	Δ E(Valor real) kcal/mol	-5,79	-9,30	-8,10	-13,64
	EMC kcal/mol	2,06	2,40	1,90	1,74
	EMC (%)	36	26	23	13

Nota: Valores obtidos sem correção do bsse

(a) cálculos (SP) 6-311++G(2d,2p)//B3LYP/6-31G*; (b) cálculos (SP) 6-311++G(2d,2p)//HF/6-31+G*

Capítulo 4

Conclusões e perspectivas

4.1 - Conclusões e perspectivas

O estudo dos sistemas nucleobases-Mg²⁺ mostrou que a interação com o cátion conduz à uma forte polarização da nucleobase. Esta polarização certamente contribui para a formação de pontes de hidrogênios mais fortes, nos ácidos nucléicos.

Com bases nos resultados obtidos no estudo dos complexos [Mg(H₂O)₆]²⁺, (H₂O)_n, nucleobases-(H₂O)_n, nucleobases-[Mg(H₂O)_n]²⁺, recomenda-se o uso dos métodos HF/6-31+G* ou B3LYP/6-31+G* para a otimização das geometrias dos subsistemas, e os métodos B3LYP/6-311++G(2d,2p) para os cálculos de energia.

Quanto ao cálculo de energias de interação, é importante considerar efeitos de correlação; embora sejam relativamente pequenos em complexos envolvendo o Mg²⁺, estes efeitos tornam-se importantes nas hidratações das nucleobases. Recomenda-se o uso de B3LYP/6-311++G(2d,2p). Seria interessante, no entanto, em estudos posteriores, uma comparação com cálculos CCSD(T) e QCISD(T), na mesma base e em base superior, para uma melhor avaliação dos efeitos de correlação e para a confirmação dos resultados obtidos neste trabalho. Tal estudo seria viável, na prática, utilizando-se hardware baseado em processadores de 64 bits, que permitem trabalhar com espaços contínuos de memória RAM, muito superiores aos atuais 4 Gybytes, impostos pelas CPUs de 32 bits.

Quanto à otimização de geometria, a pequena diferença observada entre HF/6-31+G*, B3LYP/6-311++G(2d,2p) e pBP/DN**, para o complexo [Mg(H₂O)₆]²⁺, e também entre HF/6-31+G* e pBP/DN**, para os complexos nucleobases-[Mg(H₂O)_n]²⁺, não justifica o uso de bases maiores e de maior custo computacional. Sendo assim, HF ou B3LYP, com base 6-31+G* ou pBP/DN**, são recomendados.

Em relação à geometria do complexo [Mg(H₂O)_n]²⁺, é suficiente utilizar bases menores, tais como 6-31+G*; em relação aos cálculos de energias, com os métodos HF, B3LYP ou B3PW91, recomenda-se a base mínima 6-311++G(2d,2p). O método pBP/DN**, do Spartan, apresenta o mesmo nível de qualidade, tanto na geometria quanto nos valores de energia, com apenas uma fração do custo computacional de outros métodos.

O trabalho com bases grandes, de alto momento angular, reduz os efeitos de BSSE, de forma que não é necessário empregar correções obtidas por métodos pouco confiáveis, como o *counterpoise*, útil apenas como uma estimativa do limite superior BSSE (i.e., uma estimativa BSSE maior do que a real).

O método MP2 não é recomendado para a obtenção de energias de interação intermolecular pela possibilidade de levar a estimativas distintas da energia de correlação para os subsistemas envolvidos. Somente pode ser usado com confiança quando for validado por outros métodos pós-HF variacionais e extensivos, ou após um estudo de convergência que envolva termos superiores de perturbação para os subsistemas e sistemas estudados.

Quanto ao uso de campos de força, deve se observar que as melhores estimativas de energia e geometria foram obtidas com o campo de força MMFF; neste caso, as diferenças máximas relativas aos resultados *ab initio* foram, respectivamente, de 25 kcal.mol⁻¹ e 0,2 Å.

Em trabalhos posteriores, deve-se verificar se os métodos semi-empíricos e os campos de força, especificamente parametrizados para as interações intermoleculares de subsistemas de interesse, são transferíveis para sistemas maiores, e se representam os efeitos de muitos corpos adequadamente. Na parametrização de campos de força para os sistemas estudados neste trabalho, pode-se adotar duas metodologias: i) utilizar campos de força clássicos, parametrizados em relação às energias de sistemas envolvendo mais de um par de interações, o que tenderia a reduzir os erros relativos ao EMC, sem, porém, eliminá-los; ii) uma segunda metodologia, de maior complexidade, seria desenvolver campos de força polarizáveis, cujos parâmetros permitissem representar o EMC de maneira mais adequada, e que, além disso, fossem transferíveis para sistemas maiores. Quanto aos métodos semi-empíricos, seria indicado realizar um estudo de reparametrização, a fim de verificar a sua melhor adequação aos resultados *ab initio* e a sua capacidade de representar o EMC, tanto em sistemas envolvendo cátions metálicos quanto em interações intermoleculares, entre moléculas polares simples, já que não se mostraram adequados em nenhum caso.

Neste trabalho, os resultados do estudo do efeito de muitos corpos para os sistemas nucleobases- $[\text{Mg}(\text{H}_2\text{O})_n]^{2+}$ e nucleobases- $(\text{H}_2\text{O})_n$ permitem concluir que este efeito é importante, com a possibilidade de causar tanto um aumento quanto uma diminuição dos valores de energia dos complexos, em relação à soma das energias individuais, tornando evidente a necessidade de se usar aproximações em que estes efeitos sejam considerados.

Devido a importância evidente destes efeitos na determinação de energias relativas de interação intermoleculares, inclusive nas que envolvem o cátion metálico, não se recomenda a parametrização de métodos semi-empíricos e campos de força baseados somente em interações com pares de subsistemas.

Para completar o estudo das interações envolvendo metais e ácidos nucléicos, outras interações devem ser incluídas, tais como metal-grupos fosfatos, metal-riboses, fosfato-água, água-riboses, água-nucleobases e nucleobases-nucleobases, formando, dessa forma, uma coleção consistente de dados *ab initio*, que possa ser utilizada na reparametrização, construção e validação de modelos aproximados e de menor custo computacional, como campos de força e métodos semi-empíricos, a serem aplicados em simulações envolvendo as macromoléculas de RNA e DNA.

4. 2 - Bibliografia

1. Lehninger, A. L.; Nelson, D. L.; Cox, M. M.; *Lehninger principles of biochemistry*, 4th ed., W.H. Freeman: New York, 2005.
2. Serebrov, V.; Clarke, R. J.; Gross, H. J.; Kisselev, L.; *Biochemistry* **2001**, *40*, 6688.
3. Draper, D. E.; *Rna* **2004**, *10*, 335.
4. Pyle, A. M.; *J. Biol. Inorg. Chem.* **2002**, *7*, 679.
5. Kruger, K.; Grabowski, P. J.; Zaug, A. J.; Sands, J.; Gottschling, D. E.; Cech, T. R.; *Cell* **1982**, *31*, 147.
6. Tanner, N. K.; *FEMS Microbiol. Rev.* **1999**, *23*, 257.
7. Breaker, R. R.; Joyce, G. F.; *Chem. Biol.* **1994**, *1*, 223.
8. Breaker, R. R.; *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 371.
9. Hammarsten, E.; *Biochemische Zeitschrift* **1924**, *144*, 383.
10. Katz, S.; *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, *74*, 2238.
11. Watson, J. D.; Crick, F. H.; *Nature* **1953**, *171*, 737.
12. Shack, J.; Jenkins, R. J.; Thompsett, J. M.; *J. Biol. Chem.* **1953**, *203*, 373.
13. Beer, M.; Moudrianakisen; *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1962**, *48*, 409.
14. Burda, J. V.; Sponer, J.; Hobza, P.; *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 7250.
15. Burda, J. V.; Sponer, J.; Leszczynski, J.; Hobza, P.; *J. Phys. Chem. B* **1997**, *101*, 9670.
16. Sponer, J.; Burda, J. V.; Sabat, M.; Leszczynski, J.; Hobza, P.; *J. Phys. Chem. A* **1998**, *102*, 5951.
17. Sponer, J.; Sabat, M.; Burda, J. V.; Leszczynski, J.; Hobza, P.; *J. Phys. Chem. B* **1999**, *103*, 2528.
18. Sponer, J.; Sabat, M.; Burda, J. V.; Leszczynski, J.; Hobza, P.; Lippert, B.; *J. Biol. Inorg. Chem.* **1999**, *4*, 537.
19. Sponer, J.; Sabat, M.; Gorb, L.; Leszczynski, J.; Lippert, B.; Hobza, P.; *J. Phys. Chem.* **2000**, *104*, 7535.
20. Munoz, J.; Sponer, J.; Hobza, P.; Orozco, M.; Luque, F. J.; *J. Phys. Chem. B* **2001**, *105*, 6051.

21. Gresh, N.; Spomer, J. E.; Spackova, N.; Leszczynski, J.; Spomer, J.; *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107*, 8669.
22. Spomer, J. E.; Sychrovsky, V.; Hobza, P.; Spomer, J.; *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2004**, *6*, 2772.
23. Famulari, A.; Moroni, F.; Sironi, M.; Raimondi, M.; *Comput Chem* **2000**, *24*, 341.
24. Famulari, A.; Moroni, F.; Sironi, M.; Gianinetti, E.; Raimondi, M.; *J. Mol. Struct. - Theochem.* **2000**, *529*, 209.
25. Russo, N.; Toscano, M.; Grand, A.; *J. Phys. Chem. B* **2001**, *105*, 4735.
26. Russo, N.; Toscano, M.; Grand, A.; *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 10272.
27. Russo, N.; Toscano, M.; Grand, A.; *J. Phys. Chem. A* **2003**, *107*, 11533.
28. van Gunsteren, W. F.; Berendsen, H. J. C.; *Angewandte Chemie International Edition in English* **1990**, *29*, 992.
29. Heatham, T. E. I.; Young, M. A.; **2000**, *56*, 23.
30. McConnel, K. J.; Berevidge, D. L.; *Mol. Biol.* **2000**, *304*, 80.
31. Spackova, N.; Berger, I.; Spomer, J.; *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 5519.
32. Hermann, T.; Auffinger, P.; Scott, W. G.; Westhof, E.; *Nucleic Acids Res.* **1997**, *25*, 3421.
33. Metropolis, N.; Ulam, S.; *J. Am. Statist. Assoc.* **1949**, *44*, 335.
34. Anastassopoulou, J.; *J. Mol. Struct.* **2003**, *651*, 19.
35. Schrodinger, E.; *Annalen der Physik* **1926**, *79*, 361.
36. Hartree, D. R.; *Proc. Cambridge Phill. Soc* **1928**, *24*, 89.
37. Roothaan, C. C. J.; *Rev. Mod. Phys.* **1951**, *23*, 69.
38. Szabo, A.; Ostlund, N. S.; *Modern quantum chemistry : introduction to advanced electronic structure theory*, Courier Dover Publications, INC: New York, 1996.
39. Slater, J. C.; *Phys. Rev.* **1951**, *81*, 385.
40. Slater, J. C.; *Phys. Rev.* **1955**, *98*, 1039.
41. Huzinaga, S.; Arnau, C.; *J. Chem. Phys.* **1970**, *53*, 348.
42. Clementi, E.; *J. Chem. Phys.* **1967**, *46*, 3851.
43. Kestner, N. R.; *J. Chem. Phys.* **1968**, *48*, 252.
44. Boys, S. F.; Bernardi, F.; *Mol. Phys.* **1970**, *19*, 553.

45. Moller, C.; Plesset, M. S.; *Phys. Rev.* **1934**, *46*, 618.
46. Brillouin, L.; *Actualities Soc. Ind.* **1934**, *71*, 159.
47. Brandow, B. H.; *Rev Mod Phys* **1967**, *39*, 771.
48. Cizek, J.; *Adv. Chem. Phys.* **1969**, *14*, 35.
49. Cizek, J.; Paldus, J.; *Phys Scripta* **1980**, *21*, 251.
50. Hohenberg, P.; Kohn, W.; *Phys. Rev. B* **1964**, *136*, B864.
51. Kohn, W.; Sham, L. J.; *Phys. Rev.* **1965**, *140*, 1133.
52. Stephens, P. J.; Devlin, F. J.; Chabalowski, C. F.; Frisch, M. J.; *J. Phys. Chem.* **1994**, *98*, 11623.
53. Perdew, J. P.; Wang, Y.; *Phys. Rev. B* **1992**, *45*, 13244.
54. Hehre, W. J.; *A brief guide to molecular mechanics and quantum chemical calculations*, Wavefunction Inc: Irvine, Calif., 1998.
55. Becke, A. D.; *J. Chem. Phys.* **1993**, *98*, 1372.
56. Becke, A. D.; *J. Chem. Phys.* **1993**, *98*, 5648.
57. Becke, A. D.; *Phys. Rev. A* **1988**, *38*, 3098.
58. Curtiss, L. A.; Raghavachari, K.; Trucks, G. W.; Pople, J. A.; *J. Chem. Phys.* **1991**, *94*, 7221.
59. Koch, W.; Holthausen, M. C.; *A chemist's guide to density functional theory*, 2. ed., Wiley-VCH: Weinheim, 2001.
60. Lee, C. T.; Yang, W. T.; Parr, R. G.; *Phys. Rev. B* **1988**, *37*, 785.
61. Vosko, S. H.; Wilk, L.; Nusair, M.; *Can. J. Phys.* **1980**, *58*, 1200.
62. B.J. Deppmeier, A.J. Driessen, T.S. Hehre, W.J. Hehre, J.A. Johnson, P.E. Klunzinger, J.M. Leonard, W.S. Ohlinger, I.N. Pham, W.J. Pietro, Jianguo Yu PC Spartan Pro, Wavefunction, Inc., © 2000 Irvine, CA, USA.
63. Frisch, M. J.; Trucks, H. B. S. G.; Scuseria, G. E.; Robb, J. R. C. M. A.; Zakrzewski, V. G.; Montgomery Jr., J. A.; Stratmann, J. C. B. R. E.; Dapprich, S.; Millam, J. M.; Daniels, K. N. K. A. D. *et al.*; Gaussian 98, Revision A.11; Pittsburgh, PA, 1998.
64. Lippert, B.; *Coord. Chem. Rev.* **2000**, *200*, 487.
65. Sigel, H.; *Chem. Soc. Rev.* **1993**, *22*, 255.
66. Mulliken, R. S.; *J. Chem. Phys.* **1955**, *23*, 1833.

67. Breneman, C. M.; Wiberg, K. B.; *J. Comput. Chem.* **1990**, *11*, 361.
68. Hyperchem(TM); Hypercube, Inc., 1115 NW 4th Street, Gainesville, Florida 32601, USA, 1994.
69. Halgren, T. A.; *J. Comput. Chem.* **1996**, *17*, 490.
70. Homans, S. W.; *Biochemistry* **1990**, *29*, 9110.
71. Weiner, S. J.; Kollman, P. A.; Case, D. A.; Singh, U. C.; Ghio, C.; Alagona, G.; Profeta, S.; Weiner, P.; *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 765.
72. Weiner, S. J.; Kollman, P. A.; Nguyen, D. T.; Case, D. A.; *J. Comput. Chem.* **1986**, *7*, 230.
73. Allinger, N. L.; *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 8127.
74. Jorgensen, W. L.; Tiradorives, J.; *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 1657.
75. Jorgensen, W. L.; Severance, D. L.; *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 4768.
76. Pranata, J.; Wierschke, S. G.; Jorgensen, W. L.; *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 2810.
77. Dewar, M. J. S.; Thiel, W.; *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 4899.
78. Thiel, W.; Voityuk, A. A.; *Theor Chim Acta* **1992**, *81*, 391.
79. Thiel, W.; Voityuk, A. A.; *Int. J. Quantum Chem.* **1992**, *44*, 807.
80. Stewart, J. J. P.; *J. Comput. Chem.* **1989**, *10*, 209.
81. Bacon, A. D.; Zerner, M. C.; *Theor Chim Acta* **1979**, *53*, 21.
82. Dewar, M. J. S.; Zebisch, E. G.; Healy, E. F.; Stewart, J. J. P.; *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 3902.