

CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DA ETHYL BIXIN: MAPA DE POTENCIAL ELETROSTÁTICO, HOMO, LUMO E CARGAS DE MULLIKEN

Miqueias Reges (1); Robson Magalhães Melo (2); Márcia Machado Marinho (3); Emmanuel Silva Marinho (4)

1 – Universidade Estadual do Ceará, miqueias.reges@gmail.com; 2 – Universidade Estadual do Ceará, robson.melo@aluno.uece.br; 3 – Universidade Federal do Ceará, marinho.marcia@gmail.com; 4 – Universidade Estadual do Ceará, emmanuel.marinho@uece.br

Resumo do artigo: As bixinas são hoje um dos aditivos naturais mais utilizados na indústria, sendo mais aceitos que os sintéticos no ranking de corantes alimentícios. As bixinas podem ser encontradas no óleo extraído das sementes do Urucum e, além de largamente utilizadas como corantes pelo mundo há mais de um século, as mesmas possuem uma eficiente capacidade de extinguir moléculas de O₂ em soluções fluidas, sendo um poderoso agente no combate aos radicais livres. Neste presente estudo caracterizou-se através do método quântico semi-empírico *Parameterized Model number 3*, uma molécula da família das bixinas, o Ethyl Bixin. Através das parametrizações MM_UFF e QM_PM3, a estrutura molecular sofreu uma otimização geométrica por minimização de energia e calculou-se seu momento dipolo; sua energia mínima potencial final (-116339,6527 kcal·mol⁻¹) (-185,3988705693 au); a constante que determina seu calor de formação (-79,7885 kcal·mol⁻¹); suas energias de HOMO (-0,298577) e LUMO (-0,052115); o coeficiente de reatividade da molécula, o GAP, que apresentou o valor de 6,706551 eV; a renderização do MESP (mapa de potencial eletrostático), que revelou as regiões onde ocorrerão o atracamento molecular, que compreendem toda a extensão dos oxigênios O3, O16, O29 e O30. Os dados gerados por meio deste presente estudo são notoriamente essenciais à estudos de análise comparativa entre as moléculas da família das Bixinas, bem como, à posterior realização de um estudo correlacional de SAR (relação estrutura-atividade).

Palavras-chave: *Drug Design*, Ethyl Bixin, Modelagem Molecular, MESP, ArgusLab®.

INTRODUÇÃO

Do ponto de vista econômico, as bixinas ocupam o segundo lugar entre os aditivos naturais de cor utilizados na indústria (RAMAMOORTHY, 2010), como índice comprovante disso, ao redor do mundo, o uso de corante alimentícios naturais continua em crescimento. Muitos consumidores acreditam, mesmo sem provas válidas, que os corantes naturais são menos prejudiciais e, portanto, mais aceitáveis do que corantes sintéticos. Annatto é o nome comum do corante produzido das sementes da árvore tropical Bixa orellana. As sementes possuem uma resina que contém o carotenoide solúvel em óleo cis-bixin, como pigmento primário (LANCASTER, 1996), a coloração vermelho-alaranjado dos extratos da semente é devido uma mistura dos carotenoides e seus produtos de degradação (NAJAR, 1987). Urucum ou Bixa orellana, uma pequena árvore da família Bixaceae, é nativa das Américas Central e do Sul e tem se espalhado largamente pelos trópicos. Seu nome deriva de uma palavra indiana para a cor vermelha e é usada para pintura corporal

por tribos Amazônicas (LYNG, 2004). Durante os últimos cem anos, o annatto foi utilizado primariamente para colorir produtos altamente calóricos como manteiga e queijo, mas hoje ele é usado em uma grande quantidade de produtos como cereais, lanches, cremes de café, sorvete e condimentos (LANCASTER, 1996). Os carotenoides são transportados para o plasma humano por lipoproteínas. Estes são distribuídos de forma diferente entre as várias classes de lipoproteínas. As moléculas VLDL (lipoproteínas de baixíssima densidade), LDL (lipoproteínas de baixa densidade) e HDL (lipoproteínas de alta densidade) contêm 14%, 55% e 31% de carotenoides, respectivamente. A distribuição de carotenoides em lipoproteínas é determinada pelas suas propriedades físicas e pode ser encontrada no núcleo ou na superfície da lipoproteína (RIOS, 2008). De quase todos os carotenoides que são encontrados na natureza, as bixinas, entre elas o Ethyl Bixin (**Figura 1**), são um dos mais eficientes extintores de oxigênio molecular singular O_2 (1Dg) em soluções fluidas, os radicais livres, com uma taxa de tremulação bimolécula constante semelhante à observada para o carotenoide β -caroteno (RIOS, 2006).

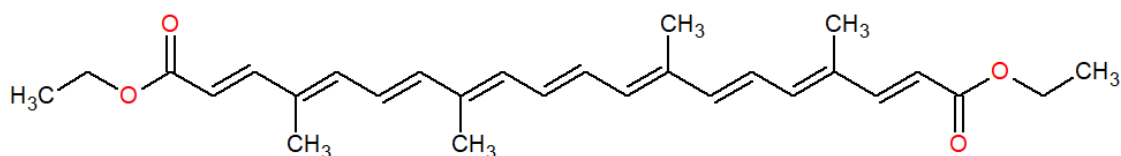


Figura 1: Estrutura inicial do composto Ethyl Bixin, visualizada através do software ACD/Chemsketch®.

Nos dias atuais, os conceitos de planejamento racional de fármacos, ou modelagem molecular, abrangem uma imensa gama de ferramentas, softwares e diversos outros recursos computacionais com o intuito de fornecer a construção, edição, visualização e, mais importante, análise de estruturas moleculares, garantindo dados extremamente precisos que possam vir à seres utilizados na indústria farmacológica e no planejamento de compostos ativos (BARREIRO et al., 1997). A química computacional, surge como método alternativo por fornecer informações importantes como ângulos de ligação, distâncias de ligação e ângulos diedros, além de caracterizarem completamente uma estrutura de maneira mais simplificada quando comparada aos métodos experimentais; os métodos denominados *in silico*, apresentam ainda uma significativa redução dos custos envolvidos na pesquisa de planejamento de fármacos, mas garantindo expressivo rendimento em precisão e velocidade de cálculo (BARREIRO et al., 1997). Este método de estudo, alternativo ao experimental, proporciona ainda a oportunidade e definir o

comportamento de uma estrutura em diversos tipos de solventes, relacionar a estrutura e as propriedades químicas de um mesmo grupo de fármacos, prever quais são os grupos funcionais e os mecanismos moleculares envolvidos na sua ação biológica (CARVALHO et al., 2003). Diante deste leque de dados que a modelagem computacional pode fornecer estão também, após o processo de minimização de energia, a energia mínima potencial, as cargas atômicas líquidas, o calor de formação da estrutura analisada, as energias dos orbitais de fronteira HOMO (Highest Occupied Molecular Orbital) e LUMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbital), bem como a relação entre eles, o GAP (BARREIRO et al., 1997) (REGES, 2017).

Dentro desta abordagem de modelagem molecular, posto a importância da Ethyl Bixin na indústria, este artigo objetiva caracterizar estruturalmente, através de métodos de mecânica molecular e quântica, o aditivo corante Ethyl Bixin, etapa necessária no processo de criação de estruturas mais eficiente biologicamente (análogos estruturais), e inicial nos processos de acoplamento molecular.

METODOLOGIA

Este presente artigo de caracterização *in silico* desenvolveu-se por meio de softwares de licença gratuita baseados no SO Windows. Para a realização dos diversos cálculos os softwares contaram com uma unidade hardware de processamento Intel Celeron 2957U, processador dual-core baseado em 64 bits e de frequência 1,40 GHz, contando com 4,00 GB de memória RAM. A metodologia utilizada seguiu conforme o seguinte padrão: (1) utilizando o repositório virtual ChemIDplus© (<https://chem.nlm.nih.gov/>), obteve-se, por download gratuito, a estrutura bidimensional inicial do Ethyl Bixin; (2) através do pacote de desenho e edição estrutural molecular lançado pela ACDLabs©, o ACD/Chemsketch®, foi possível gerar a primeira visualização tridimensional do composto e calcular diversas propriedades básicas (fórmula molecular, peso da fórmula, composição, refatividade molar, volume molar, parâmetro de refração, índice de refração, tensão superficial, densidade, polarizabilidade e massa monoisótopo); (3) realizou-se, por meio do software ArgusLab®, a etapa de minimização de energia, otimizando geometricamente o composto sob a configuração dos parâmetros MM_UFF (RAPPE, 1991) e QM_PM3 (STEWART et al., 1989); (4) sob a parametrização QM_PM3 (STEWART et al., 1989), calculou-se ainda as propriedades específicas do composto (energia mínima potencial, calor de formação, momento dipolo e análise populacional de Mulliken) e (5) foram renderizadas as

superfícies tridimensionais dos orbitais de fronteira HOMO e LUMO, da densidade eletrônica e do mapa de potencial eletrostático (STEWART et al., 1989).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A estrutura molecular do composto Ethyl Bixin foi obtida, inicialmente, através do repositório virtual ChemIDplus© (<https://chem.nlm.nih.gov/>), uma biblioteca online de estruturas químicas disponibilizadas gratuitamente para download. O arquivo obtido, a estrutura acíclica (**Figura 1**) do composto Ethyl Bixin, foi processado pelo software gratuito ACD/Chemsketch®, componente de desenho molecular lançado pela ACDLabs©. A análise primária da estrutura permitiu a aferição de diversas propriedades básicas (**Tabela 1**) bem como a renderização da primeira estrutura tridimensional da molécula (**Figura 2**). Como características específicas deste composto, determinou-se, por meio do software de licença aberta ACD/Chemsketch®, a fórmula molecular da estrutura (C₂₈H₃₆O₄), a refratividade molar (135,20 ± 0,3 cm³), a polarizabilidade (53,60 ± 0,5 10⁻²⁴ cm³) e a composição percentual, dado que determina a porcentagem de átomos de cada elemento presente da estrutura, sendo a mesma predominantemente formada por carbono (77,03%), seguido por oxigênio (14,66%) e hidrogênio (8,31%).

Tabela 1: Propriedade Básica do composto Ethyl Bixin, geradas *in silico* através do software ACD/Chemsketch®.

Fórmula Molecular	C ₂₈ H ₃₆ O ₄	Peso da Fórmula	436,58304
Composição	C (77,03%); H (8,31%); O (14,66%);		
Refratividade Molar	135,20 ± 0,3 cm ³	Volume Molar	439,4 ± 3,0 cm ³
Parachor	1065,2 ± 4,0 cm ³	Índice de Refração	1,527 ± 0,02
Tensão Superficial	34,5 ± 3,0 dyne/cm	Densidade	0,993 ± 0,06 g/cm ³
Polarizabilidade	53,60 ± 0,5 10 ⁻²⁴ cm ³	Massa Monoisótopo	436,26136 Da

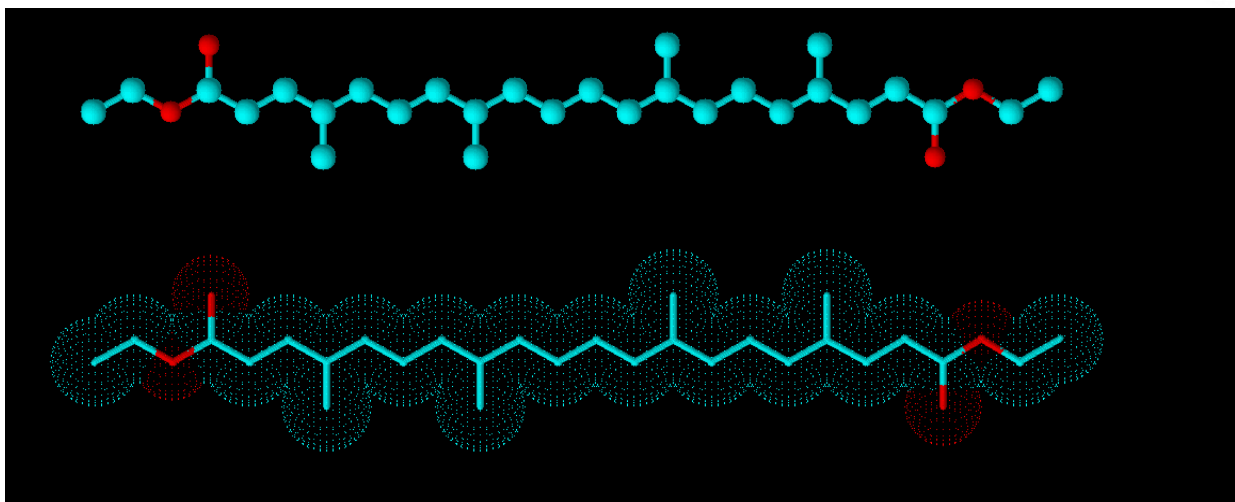


Figura 2: Estrutura tridimensional inicial do composto Ethyl Bixin, renderizada *in silico* através do software ACD/Chemsketch®.

Para realizar a caracterização do composto, é necessário calcular de modo preciso todos os dados da estrutura e para isto ela deve encontrar-se em sua conformação mais estável, isto é, quando mantém a mesma estrutura molecular e ângulos de ligação que possui em ambiente real e sua energia final for a menor calculável possível. Estruturas advindas de repositórios online, como no caso do Ethyl Bixin, ou construídas por meio de uma ferramenta de desenho e edição molecular estrutural, não contem esta conformação mais estável, assim sendo necessário otimizar geometricamente a estrutura através do processo de minimização de energia (CARVALHO et al., 2003). Através do software de licença aberta ArgusLab® (THOMPSON, 2004), a realização do processo de otimização de energia fez-se por dois métodos, inicialmente utilizando o método da mecânica molecular, configurado para os parâmetros UFF (MM_UFF) (RAPPE, 1991), utilizando um ciclo de 200 interações de otimização, tendo convergido às 165 interações; após, a estrutura passou pela otimização à partir do método da mecânica quântica, configurado com a parametrização Parameterized Model number 3 (QM_PM3) (STEWART, 1989), composto por 2 ciclos de 200 interações cada onde no segundo ciclo a estrutura convergiu totalmente otimizada às 55 interações. Neste ponto da otimização a molécula chegou à sua conformação mais estável (**Figura 3**) e cada átomo da mesma apresenta a posição de menor energia possível dentro da estrutura (**Tabela 2**). A partir deste ponto, onde obtemos a molécula em sua conformação teórica mais próxima da realidade, podemos calcular três propriedades essenciais que compreendem sua energia potencial mínima ($-116339,6527 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$) ($-185,3988705693 \text{ au}$), a constante que determina seu calor de formação ($-79,7885 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$) e como aspecto final o seu momento dipolo com as coordenadas XYZ ($-0,00079714$; -

0,00034179; -0,00008743) e comprimento (0,00087172) respectivamente.

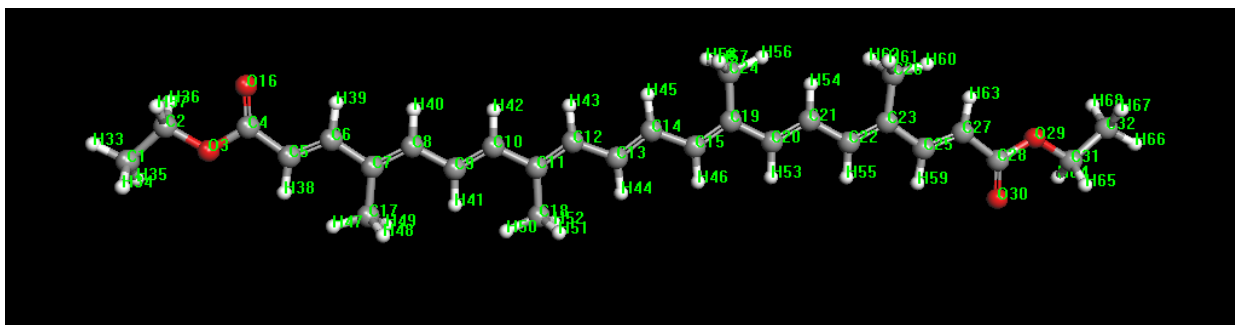


Figura 3: Estrutura otimizada do composto Ethyl Bixin, obtida por meio dos métodos (MM_UFF) e (QM_PM3), utilizando o software ArgusLab®.

Atualmente, dentre os mais diferentes métodos de designação e cálculo de cargas atômicas, o mais utilizado é o método de Análise Populacional de Mulliken (ARROIO, 2010). Este método divide as cargas atômicas, densidade de cargas, uniformemente sem levar em conta a eletronegatividade dos átomos. Essa propriedade de densidade atômica é relevante quanto aos estudos correlacionais entre a estrutura e sua respectiva atividade biológica (GUADAGNINI, 1996). Analisando os dados (**Tabela 2**) fornecidos pelo software ArgusLab®, podemos determinar que o elemento a maior variação de carga em seus átomos foi o carbono, constando os de menor carga os C1 e C32 com cargas iguais (-0,3306) e os de maior carga os C4 e C28 também com cargas iguais (0,4501), além da maior variação encontrada (0,7807), foi também o que apresentou a maior carga máxima; no extremo oposto temos o hidrogênio, que apresentou a menor variação entre átomos (0,1113), cujos átomos de menor carga foram os H50 e H56 de cargas iguais (0,1107) e o de maior carga o H63 de carga (0,2220); quanto aos oxigênios, estes apresentaram variação mediana (0,1259) porém com todos os átomos situados aos extremos energéticos, sendo os de menor carga os O16 e O30 com cargas iguais (-0,4050) e os de maior carga os O3 e O29 com cargas também iguais (-0,2791).

Átomo	Carga	Átomo	Carga	Átomo	Carga	Átomo	Carga
01C	-0,3306	18C	-0,2717	35H	0,1167	52H	0,1198
02C	-0,0582	19C	-0,0818	36H	0,1170	53H	0,1851
03O	-0,2791	20C	-0,1579	37H	0,1170	54H	0,1961
04C	0,4501	21C	-0,2104	38H	0,2219	55H	0,1878
05C	-0,3119	22C	-0,1550	39H	0,2053	56H	0,1107
06C	-0,0890	23C	-0,1144	40H	0,1878	57H	0,1198

07C	-0,1144	24C	-0,2717	41H	0,1961	58H	0,1198
08C	-0,1551	25C	-0,0890	42H	0,1851	59H	0,2054
09C	-0,2104	26C	-0,2692	43H	0,1864	60H	0,1131
10C	-0,1580	27C	-0,3119	44H	0,1905	61H	0,1198
11C	-0,0818	28C	0,4501	45H	0,1905	62H	0,1198
12C	-0,1894	29O	-0,2791	46H	0,1864	63H	0,2220
13C	-0,1851	30O	-0,4050	47H	0,1131	64H	0,1170
14C	-0,1851	31C	-0,0582	48H	0,1199	65H	0,1170
15C	-0,1894	32C	-0,3306	49H	0,1199	66H	0,1148
16O	-0,4050	33H	0,1148	50H	0,1107	67H	0,1167
17C	-0,2692	34H	0,1167	51H	0,1198	68H	0,1167

Tabela 2: Análise Populacional de Mulliken do composto Ethyl Bixin, obtida por meio do software ArgusLab®. Destaque nas células que apresentaram extremos de cada elemento, azul para carbonos, terracota para oxigênios e verde para hidrogênios.

Das propriedades que podem ser determinadas em uma estrutura está a maior ou menor concentração de elétrons em cada região da mesma, o vetor que indica essa concentração é o potencial eletrostático. Quando mapeado por sobre a superfície de densidade eletrônica (**Figura 4**) o vetor de potencial eletrostático permite renderizar o mapa de potencial eletrostático (MESP), que permite observar com clareza as regiões nucleofílicas e eletrofílicas da estrutura. Analisando o MESP do composto Ethyl Bixin (**Figura 5**), é possível identificar uma área de maior concentração de elétrons, região nucleofílica (em vermelho), formada pelos oxigênios O3, O16, O29 e O30; a cadeia carbônica que compreende os carbonos C7, C8, C9, C10, C11, C12, C13, C14, C15, C19, C20, C21, C22 e C23, e em menor intensidade os carbonos C6 e C25, formam uma fina região de neutralidade, (em azul claro, azul escuro e violeta); contudo o restante da molécula permanece em uma região carente de elétrons, denominada região eletrofílica (em branco) (ARAÚJO et al., 2016) (REGES, 2017).

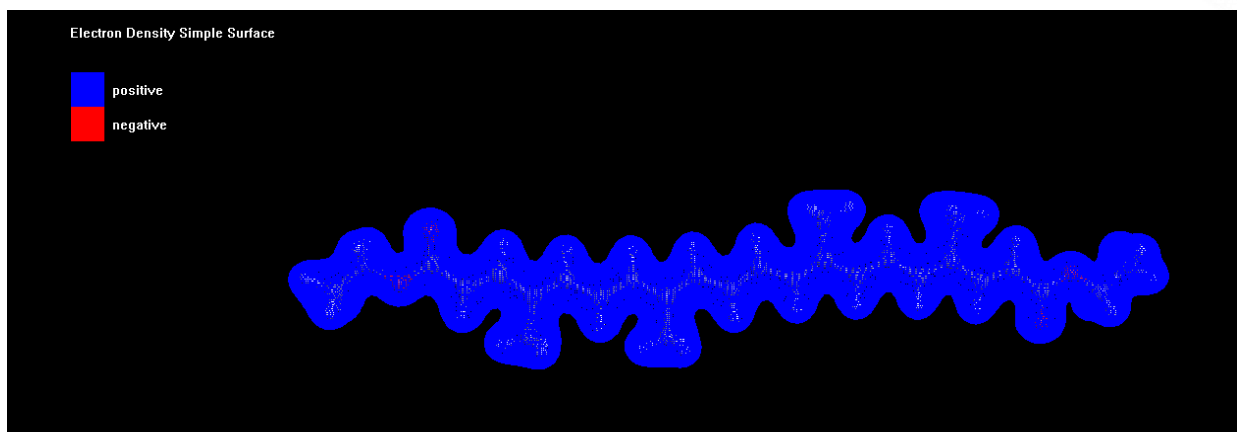


Figura 4: Superfície de Densidade Eletrônica do composto Ethyl Bixin, renderizada através do software ArgusLab®.

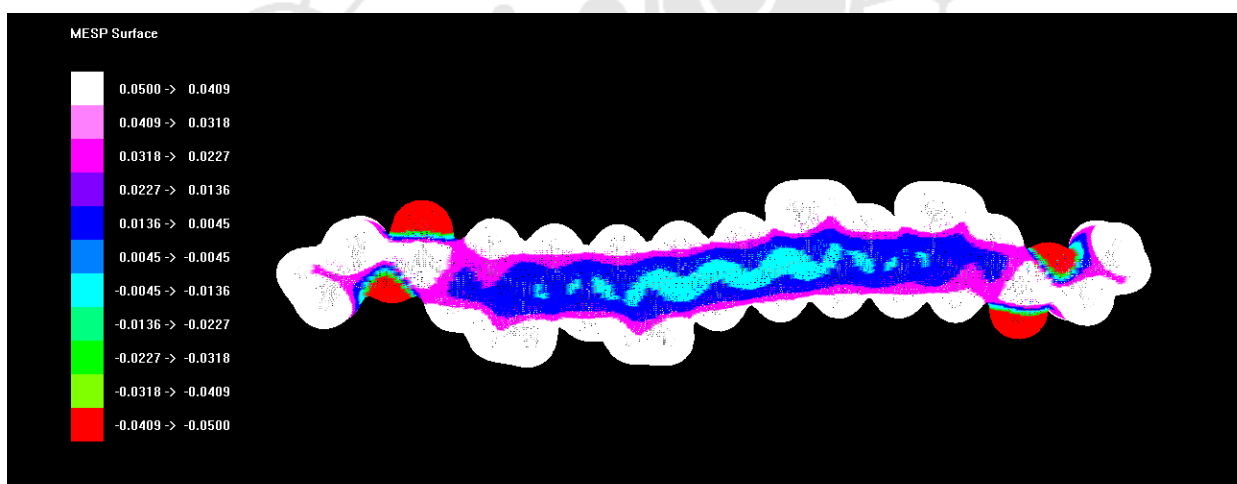


Figura 5: Mapa de Potencial Eletrostático do composto Ethyl Bixin, renderizado através do software ArgusLab®.

Ainda por meio do software de licença aberta ArgusLab®, utilizando a configuração de parâmetros Parameterized Model number 3 (QM_PM3) (STEWART, 1989), foi possível calcular as energias dos orbitais de fronteira. Compõem os orbitais de fronteira o orbital molecular mais ocupado (Highest Occupied Molecular Orbital, HOMO) (**Figura 6**) e o orbital molecular menos desocupado (Lowest Unoccupied Molecular Orbital, LUMO) (**Figura 7**); eles ainda apresentam dados fundamentais à compreensão da capacidade elétron-doadora da molécula, relacionada ao HOMO, e da capacidade elétron-receptora da molécula, relacionada ao LUMO (ARROIO, 2010). Através dos cálculos semi-empíricos foi possível determinar a energia (-0,298577) do orbital 86 (HOMO) e a energia (-0,052115) do orbital 87 (LUMO). As energias fornecidas são melhor entendidas quando as

relacionamos e calculamos o GAP, fator crucial para determinar a reatividade da molécula, pois o valor do GAP é inversamente proporcional à reatividade, quanto menor o GAP, mais reativa a estrutura será (REGES, 2017). Para o composto químico do Ethyl Bixin foi determinado o valor de 0,246462, isto é 6,706551 eV, aferindo uma baixa variação e representando a alta reatividade da estrutura.

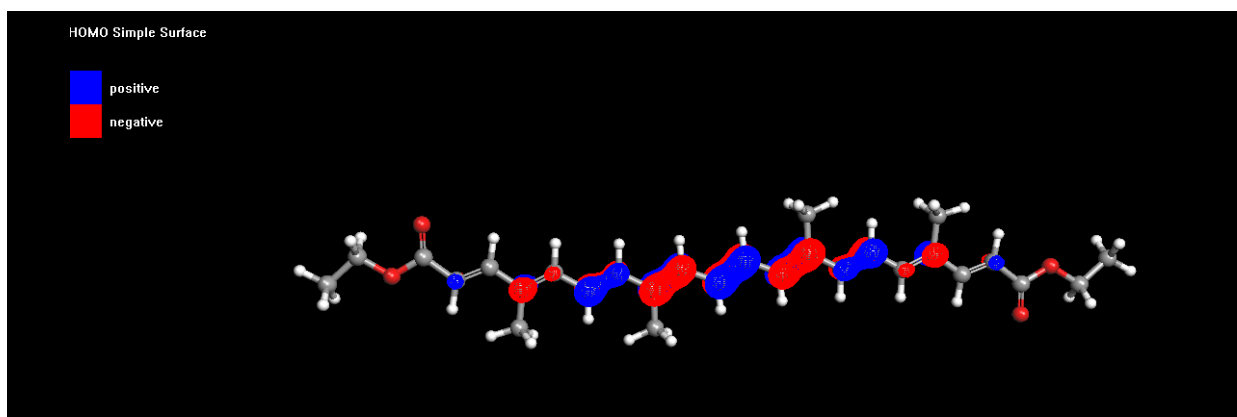


Figura 6: Superfície do Orbital de Fronteira HOMO do composto Ethyl Bixin, renderizada através do software ArgusLab®.

Podemos analisar também, por meio das superfícies tridimensionais dos orbitais de fronteira, quais átomos contribuem para a formação dos mesmos, neste caso podemos identificar que os átomos de carbono C5, C7, C8, C9, C10, C11, C12, C13, C14, C15, C19, C20, C21, C22, C23 e C27 contribuem igualmente para a formação de ambos os orbitais, daí sua alta reatividade, diferenciando-se apenas quanto aos carbonos C6 e C25 que fazem parte apenas do LUMO.

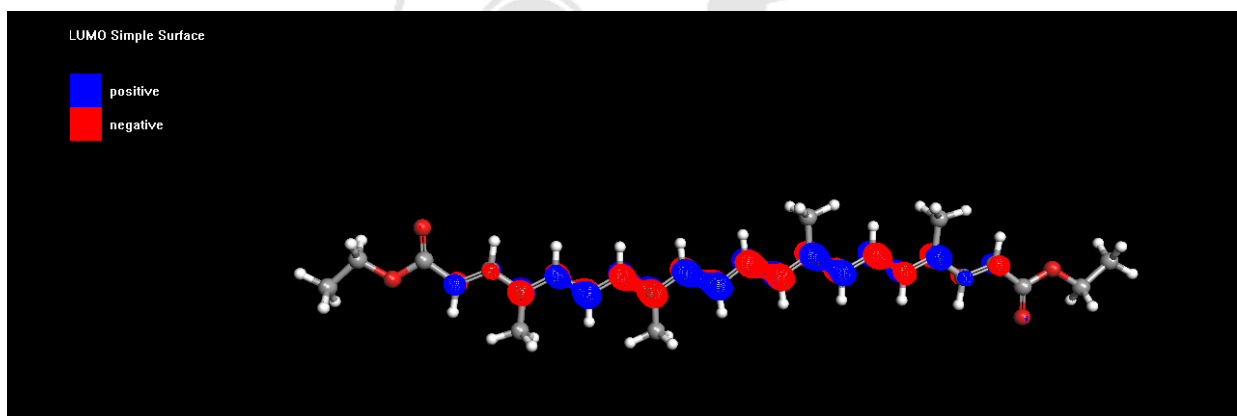


Figura 7: Superfície do Orbital de Fronteira LUMO do composto Ethyl Bixin, renderizada através do software ArgusLab®.

CONCLUSÕES

Através de uma análise primária, desenvolvida na plataforma de desenho estrutural do freeware ACD/Chemsketch[®], identificou-se características básicas do composto, que abrangem desde sua fórmula molecular ($C_{28}H_{36}O_4$) até propriedades deveras específicas, tomando por exemplo a polarizabilidade ($53,60 \pm 0,5 \cdot 10^{-24} \text{ cm}^3$) e a refratividade molar ($135,20 \pm 0,3 \text{ cm}^3$). Por meio de cálculos utilizando o método semi-empírico baseado da mecânica quântica *Parameterized Model number 3* (QM_PM3), a estrutura inicial do composto Ethyl Bixin foi otimizada geometricamente até atingir o ponto teórico mais próximo de sua conformação nativa, contando com a estrutura estabilizada, e a sua energia mínima potencial alcançar a constante mínima irreduzível de ($-116339,6527 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$), bem como a determinação do calor de formação ($-79,7885 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$). Quanto à capacidade elétron-doadora e elétron-receptora da estrutura, foi possível definir a energia do orbital número 86 que representa o HOMO ($-0,298577$) e do orbital número 87 que representa o LUMO ($-0,052115$), obteve-se ainda o coeficiente de reatividade da molécula, o GAP, que apresentou o valor de $6,706551 \text{ eV}$, indicando forte reatividade molecular. Através do mapa de potencial eletrostático (MESP), foram também determinadas as áreas de maior probabilidade de ocorrência de um ataque nucleofílico, regiões onde ocorrerão o atracamento molecular, que compreendem toda a extensão dos oxigênios O3, O16, O29 e O30; o MESP da estrutura analisada indicou ainda a presença massiva de regiões com tendência à ataques eletrofílicos, composta em sua maior parte pelos hidrogênios do composto. Os dados gerados através deste breve estudo visam uma melhor compreensão da estrutura, revelando aspectos fundamentais do seu comportamento. As informações calculadas são de notória importância quando realizados estudos paralelos de análise comparativa entre outros compostos da família das Bixinas, bem como fornecem um fundamento sólido destinado à futuros estudos correlacionais entre a estrutura do composto e sua atividade biológica e farmacológica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACD/ACD/Chemsketch[®]©. Advanced Chemistry Development, Inc. ACD/Labs Release: 12.00, version 12.01, Build 30815, 10 Feb. 2009.

ARAÚJO, G. A.; SILVA, E. P.; SANABIO, E. P.; PINHEIRO, J. A.; CASTRO, R.R.; CASTRO, R.R.; MARINHO, M.M.; LIMA, F. K. S.;

MARINHO, E.S. Characterization in Silico of the Structural Parameters of the Antifungal Agent Ketoconazole. **Science Signpost Publishing**, 2016.

ARROIO, A.; HONÓRIO, K. M.; DA SILVA, A. B. F.; Propriedades químico-quânticas empregadas em estudos das relações estrutura-atividade. **Química Nova**, v. 33, n. 3, p. 694-699, 2010.

BARREIRO, E. J.; RODRIGUES, C. R.; ALBUQUERQUE, M. G.; SANT'ANNA, C. M. R. de; ALENCASTRO, R. B. de. Modelagem Molecular: Uma Ferramenta para o Planejamento Racional de Fármacos em Química Medicinal. **Química Nova**, v. 20, n. 1, 1997.

CARVALHO, I.; PUPO, M. T.; BORGES, Á. D. L.; BERNARDES, L. S. C. Introdução a modelagem molecular de fármacos no curso experimental de química farmacêutica. **Química Nova**, v. 26, n. 03, p. 428-438, 2003.

CASEWIT, C. J.; COLWELL, K. S.; RAPPE, A. K. Application of a universal force field to organic molecules. **Journal of The American Chemical Society**, v. 114, n. 25, p. 10035-10046, 1992.

CASEWIT, C. J.; COLWELL, K. S.; RAPPE, A. K. Application of a universal force field to main group compounds. **Journal of The American Chemical Society**, v. 114, n. 25, p. 10046-10053, 1992.

GUADAGNINI, P. H.; BRUNS, R. E.; SOUZA, A. A. Cargas atômicas em moléculas. **Química Nova**, v. 19, n. 2, p. 148-155, 1996.

LANCASTER, F. E.; LAWRENCE J. F. High-performance liquid chromatographic separation of carminic acid, α - and β -bixin, and α - and β -norbixin, and the determination of carminic acid in foods. **Journal of Chromatography A**, n. 732, p. 394-398, 1996.

LYNG, S. M. O.; PASSOS, M.; FONTANA, J. D. Bixin and α -cyclodextrin inclusion complex and stability tests. **Process Biochemistry**, n. 40, p. 865-872, 2005.

NAJAR, S. V.; BOBBIO F. O.; BOBBIO P. A. Effects of Light, Air, Anti-oxidants and Pro-oxidants on Annatto Extracts (Bixa orellana). **Food Chemistry**, n. 29, p. 283-289, 1988.

STEWART, J. J. P. Optimization of parameters for semiempirical methods I. Method. **Journal of Computational Chemistry**, v. 10, n. 2, p. 209-220, 1989.

STEWART, J. J. P. Optimization of parameters for semiempirical methods I. Applications. **Journal of Computational Chemistry**, v. 10, n. 2, p. 221-264, 1989.

RAMAMOORTHY, S.; DOSS, F. P.; KUNDU, K.; SATYANARAYANA, V. S. V.; KUMAR, V. Molecular characterization of bixin—An important industrial product. **Industrial Crops and Products**, n. 32, p. 48-53, 2010.

RAPPE, A. K.; GODDARD III, W. A. Charge equilibration for molecular dynamics simulations. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 95, n. 8, p. 3358-3363, 1991.

RAPPE, A. K.; CASEWIT, C. J.; COLWELL, K. S.; GODDARD III, W. A.; SKIFF, W. M. UFF, a full periodic table force field for molecular mechanics and molecular dynamics simulations. **Journal of The American Chemical Society**, v. 114, n. 25, p. 10024-10035, 1992.

RAPPE, A. K.; COLWELL, K. S.; CASEWIT, C. J. Application of a universal force field to metal complexes. **Inorganic Chemistry**, v. 32, n. 16, p. 3438-3450, 1993.

REGES, M.; MARINHO, M. M.; MARINHO, E. S. Semi-Empirical Study of the Drug Riociguat, an Important Drug for Oral Treatment against Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension. **International Journal of Scientific Engineering and Science**, v. 1, n. 1, p. 13-17, 2017.

RIOS, A. de O.; MERCADANTE, A. Z.; BORSARELLI, C. D. Triplet state energy of the carotenoid bixin determined by photoacoustic calorimetry. **Dyes and Pigments**, n. 74, p. 561-565, 2006.

RIOS, A. de O.; ANTUNES, L. M. G.; BIANCHI, M. de L. P. Bixin and lycopene modulation of free radical generation induced by cisplatin–DNA interaction. **Food Chemistry**, n. 113, p. 1113-1118, 2009.

THOMPSON M.A. **ArgusLab 4.0.1** Planaria Software LLC, Seattle, WA (2004).