

## Minicurso LQTA – QSAR ---- TUTORIAL

### Pré-requisitos



Muitas das etapas do minicurso serão realizadas com o sistema operacional Linux, distribuição Ubuntu 8.10 (64 bit), cujo download pode ser realizado do site <http://www.ubuntu.com/getubuntu/download>. As instruções de instalação estão descritas no referido site. Cabe ressaltar, no entanto, que quaisquer outras versões Linux podem ser utilizadas na realização da metodologia.

As etapas de construção e validação dos modelos QSAR podem ser realizadas utilizando qualquer um dos sistemas operacionais, Windows™ ou Linux. No entanto, o sistema Linux é indispensável para o processamento das simulações de dinâmica molecular (DM) (GROMACS).



O tutorial se realizará com acesso remoto às máquinas Linux do Laboratório de Quimiometria Teórica e Aplicada - LQTA.

Para o acesso remoto são recomendados os seguintes programas executáveis de livre acesso:

WinSCP (<http://winscp.net/eng/index.php>) e

Putty (<http://www.chiark.greenend.org.uk/~sgtatham/putty/download.html>).

O programa WinSCP é usado para a transferência de arquivos entre máquinas com Windows e Linux. Embora o programa WinSCP permita que o usuário execute comandos no Linux, outro programa, o Putty, tem interface mais semelhante ao próprio terminal do Linux. Se o usuário preferir utilizar um programa pago, sugere-se o Xmanager, <http://www.netsarang.com/>. O Xmanager possui todas as funcionalidades dos programas WinSCP e Putty, além de permitir que a interface gráfica do Linux seja usada diretamente no Windows.



Programas podem ser utilizados para o desenho de modelos moleculares 3D, além de realizar e monitorar simulações de DM necessárias em estudos de QSAR-4D. Poucas opções de software de livre acesso se prestam à criação de modelos moleculares 3D de qualidade, dentre elas destaca-se o Ghemical (<http://www.uku.fi/~thassine/projects/ghemical/>). Contudo, existem opções não gratuitas como HyperChem, Spartan, GaussView, etc. Caberá ao usuário selecionar o programa que tenha maior afinidade.

Abaixo estão listados alguns programas úteis, além dos já mencionados, tanto para o tutorial como para qualquer outro estudo teórico:

- GROMACS 4.0: <http://www.gromacs.org/>



- VMD: <http://www.ks.uiuc.edu/Research/vmd/>
- Gaussian'03: <http://www.picinfo.com.br/>
- Molden: <http://www.cmbi.ru.nl/molden/molden.html>
- OpenBabelGUI: <http://openbabel.org/wiki/Install>
- GRACE: apt-get install xmgrace
- dos2unix: apt-get install sysutils
- Chimera, Pymol: <http://www.cgl.ucsf.edu/chimera/> , <http://pymol.sourceforge.net/>
- ViewerLite (somente Windows): <http://classweb.gmu.edu/sslayden/Chem350/info/viewerlite-install.htm>
- TextPad (somente Windows, opcional): [www.textpad.com/](http://www.textpad.com/)
- Pirouette® (pago, somente Windows, opcional): [www.infometrix.com/software/softdesc.html](http://www.infometrix.com/software/softdesc.html)
- Java (**Versão 6 update 11 ou mais atual**): [http://java.com/pt\\_BR/](http://java.com/pt_BR/)
- MatLab (pago, opcional): <http://www.mathworks.com/>


### Criação de modelos QSAR-4D independente do receptor (IR)



O pacote LQTA-QSAR utiliza a informação de coordenadas atômicas e topologia provenientes do programa GROMACS. O usuário tem a liberdade de executar as simulações de DM da maneira que desejar. Pode-se escolher, por exemplo, um alvo protéico e realizar as simulações de DM de complexos ligante-receptor. Podem-se escolher outras biomacromoléculas, como DNA, RNA e até mesmo macroestruturas como capsídeos, membranas lipídicas e paredes celulares. Vale ressaltar que o custo computacional cresce proporcionalmente ao tamanho do sistema. Um sistema bastante simples, como ligantes livres em meio aquoso, será o alvo de estudos neste tutorial.

Os passos necessários para gerar a matriz de descritores QSAR-4D estão enumerados a seguir:

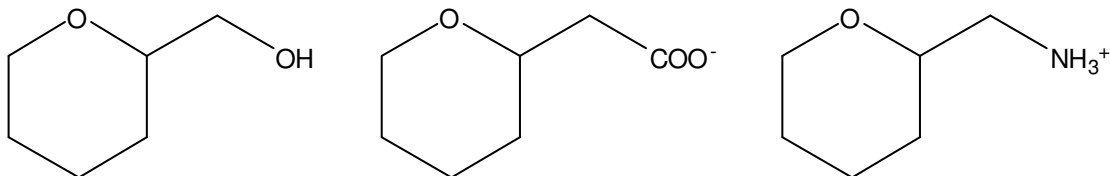
1. Otimização ou minimização de energia de modelos moleculares 3D e obtenção de cargas atômicas parciais com métodos *ab-initio*, ou teoria do funcional da densidade (DFT, *density-functional theory*);
2. Simulações de DM para a obtenção dos perfis de amostragem conformacional;
3. Alinhamento dos perfis dos modelos moleculares;
4. Cálculo e obtenção de descritores de interação de energia com o módulo *LQTAgrid* do pacote LQTA-QSAR.

 Programas necessários se encontram na pasta *minicurso* no Windows e todos os arquivos necessários para a realização deste tutorial no Linux estão armazenados na pasta din\_files.



## 1. Obtenção de cargas atômicas

Na primeira etapa deste tutorial serão utilizadas coordenadas pré-definidas de 3 moléculas: uma neutra, um cátion e um ânion (figura abaixo). O usuário pode escolher qualquer uma das estruturas para realizar os cálculos de cargas atômicas parciais. [Obs: As estruturas foram previamente otimizadas]. O programa Gaussian'03 será empregado para o cálculo de cargas de potencial eletrostático (ChelpG).



O usuário deve usar o programa Putty para acessar a máquina onde se encontra o respectivo login e senha e carregar a pasta `din_files/`; copiar os arquivos `.gjf` escolhidos para a pasta `opt/`.

```
cp ../din_files/xx.gjf opt/ ← anion.gjf cation.gjf neutral.gjf
```

OBS: Quando arquivos forem criados em ambiente Windows e transferidos para o Linux é conveniente convertê-los para o formato Unix usando o comando `$dos2unix arquivo`

Com auxílio de um dos programas: **WinSCP**, **vim**, **vi**, etc, editar o arquivo de entrada `.gjf`. Alterar a seção de rota (linha #) para um cálculo *single point* no nível de teoria *ab initio* (HF) ou funcional da densidade (B3LYP) e inserir as palavras-chave **pop=(chelpg,dipole)**. **Obs: escolha um conjunto de bases pequeno como 3-21G ou 6-31G\***. Métodos semi-empíricos como AM1 não geram cargas ChelpG. O arquivo vai ficar parecido com arquivo abaixo:

```
%chk=anion.chk
# HF/3-21G geom=connectivity pop=(chelpg,dipole) (exemplo)

Título do job ← Escolher o título

-1 1
...
```

Executar o programa Gaussian'03 com o comando abaixo:

```
(g03 xxxx.gjf &)
```

Ao colocar um comando entre parênteses, evita-se a interrupção abrupta do cálculo em caso de problemas na conexão.

```
tail -f xxx.log ← Acompanhar o andamento do cálculo
```

Quando finalizar o cálculo de geração de cargas atômicas, transfira o arquivo *log* para o Windows e utilizar o programa OpenBabelGUI para converter a saída do Gaussian'03 (*exemplo: neutra.log*) em um arquivo do tipo mol2. Salvar diretamente no OpenBabel ou copiar para um editor de textos o arquivo (com a extensão .mol2).



Durante a conversão do arquivo de saída do Gaussian'03 o programa OpenBabel usa apenas as cargas de Mulliken e não as ChelpG. Um “truque” garante que as cargas ChelpG sejam utilizadas. Marcar a opção “**Input below (ignore input file)**” e substituir as cargas de Mulliken pelas ChelpG. (As cargas se encontram no fim do arquivo *log*)

Obs: O arquivo mol2 deve se parecer com arquivo a seguir. A segunda coluna deve conter o nome do átomo seguido do número, que corresponde àquele que aparece na primeira coluna. Se não estiver neste formato, deve ser editado manualmente.

```
....
@<TRIPOS>ATOM
  1 C1      0.5834  1.4078 -0.1372 C.3  1 LIG  -0.1949
  2 C2     -0.4774  0.4071  0.3204 C.3  1 LIG   0.3245
...
 15 O15    -0.2072 -0.9049 -0.2263 O.3  1 LIG  -0.5685
 16 C16    -1.8613  0.7424 -0.2176 C.3  1 LIG  -0.0459
....
```

## 2. Simulação de DM para a obtenção dos perfis de amostragem conformacional

O programa GROMACS usa um banco de dados interno, o qual contém parâmetros de reconhecimento apenas para aminoácidos, ácidos nucleicos e alguns lipídios. Então, tal programa não consegue, de forma automática, parametrizar moléculas, ou sistemas moleculares, que não se enquadre nas classes mencionadas. Dessa maneira, os parâmetros faltantes devem ser recuperados utilizando o servidor Dundee.

O servidor PRODRG2.5 será empregado para parametrizar os ligantes para desenvolver as simulações de DM no GROMACS. Utilize o arquivo .mol2 gerado acima como entrada para o programa PRODRG2.5.

Acessar: [davapc1.bioch.dundee.ac.uk/cgi-bin/prodrgr\\_beta](http://davapc1.bioch.dundee.ac.uk/cgi-bin/prodrgr_beta) (no google buscar: **prodrgr beta**)

Mudar o campo EM de Yes para No

Colar o arquivo .mol2

Run PRODRG

(Atenção: o procedimento pode levar algum tempo para se completar)

**Este trecho não se aplica ao tutorial. Usar a informação abaixo quando for parametrizar o seu sistema no seu laboratório.**

Certifique-se de que o servidor PRODRG2.5 converteu corretamente o arquivo mol2 em uma estrutura com o número de hidrogênios corretos. Caso não tenha, isto deve ser corrigido com a adição das linhas no campo de entrada:

ADDHYD [atomname] ou

DELHYD [atomname]

Deve-se, também, certificar se a hibridização dos carbonos está correta, se não estiver, corrigir o problema adicionando a linha abaixo no campo de entrada:

PATCH [atomname] n

Onde n = 1, 2 ou 3 para sp, sp2 e sp3 respectivamente.

**Atomname** é o nome do átomo no arquivo de topologia.

Se a estrutura apresentada estiver correta, salvar em arquivos separados os seguintes campos: **The GROMOS87/GROMACS coordinate file (polar/aromatic hydrogens)** e **The GROMACS topology**.

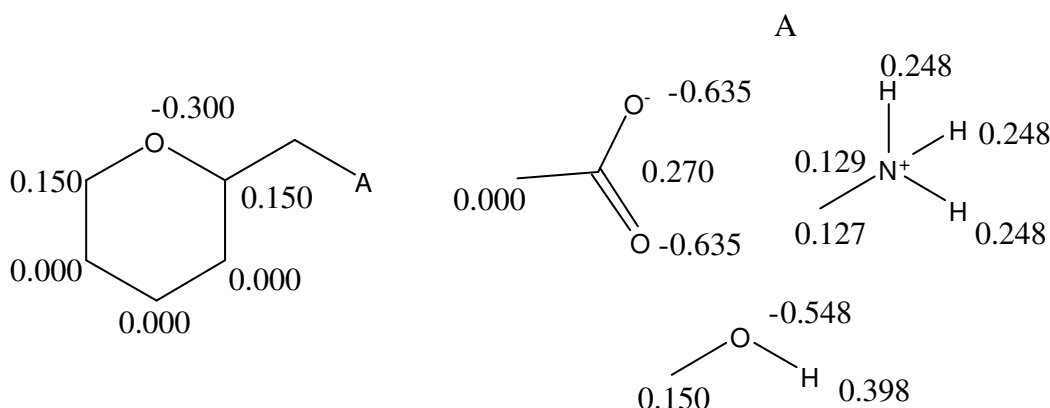
O primeiro arquivo contém as coordenadas do ligante e deve ser salvo como **lig.gro**. O segundo arquivo corresponde



ao arquivo de topologia para o campo de força GROMOS e deve ser salvo como **lig.itp**. O arquivo de topologia deve conter parâmetros empíricos de campo de força (parametrização) e, em um estudo de QSAR-4D, deve-se reconhecer a natureza de cada um dos parâmetros, para modificá-los conforme a necessidade.

No Linux via acesso remoto criar uma pasta específica para os três arquivos: xx.mol2, lig.gro e lig.itp. Com o auxílio do programa WinSCP, transferir tais arquivos para a pasta criada. Cada molécula do conjunto estudado deve estar contida em uma pasta individual. Por isso, esse procedimento deve ser repetido para as demais moléculas, ou seja, novas pastas para conter os arquivos de cada molécula devem ser criadas. Não modificar a nomenclatura dos arquivos.

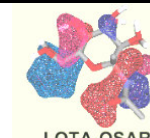
O próximo passo é editar o arquivo .itp de maneira que as cargas se apresentem como demonstrado abaixo. As cargas ChelpG serão utilizadas em outro momento. A somatória das cargas deve ser um número inteiro. Caso haja dúvidas sobre a numeração, abrir o arquivo mol2 ou **lig.gro** no programa **VMD**.



O campo em azul claro mostra onde o arquivo deve ser modificado para a inserção das cargas.

```

;
;
;   This file was generated by PRODRG version AA081006.0504
;   PRODRG written/copyrighted by Daan van Aalten
;   and Alexander Schuettelkopf
;
;   Questions/comments to dava@davapc1.bioch.dundee.ac.uk
;
;   When using this software in a publication, cite:
;   A. W. Schuettelkopf and D. M. F. van Aalten (2004).
;   PRODRG - a tool for high-throughput crystallography
;   of protein-ligand complexes.
;   Acta Crystallogr. D60, 1355--1363.
;
;
;
```



```
[ moleculetype ]
; Name nrexcl
PDB      3

[ atoms ]
;  nr      type  resnr resid  atom  cgnr  charge  mass
   1       OM    1  PDB    O2    1    -0.635  15.9994
   2       C     1  PDB    C7    1     0.270  12.0110
   3       OM    1  PDB    O3    1    -0.635  15.9994
   4      CH2    1  PDB    C6    1     0.000  14.0270
   5      CH1    1  PDB    C2    1     0.150  13.0190
   6       OA    1  PDB    O1    1    -0.300  15.9994
   7      CH1    1  PDB    C3    1     0.150  14.0270
   8      CH1    1  PDB    C4    2     0.000  14.0270
   9      CH1    1  PDB    C5    2     0.000  14.0270
  10      CH1    1  PDB    C1    2     0.000  14.0270
...

```

Ainda em relação ao arquivo **lig.itp**, inserir as linhas imprescindíveis à execução das simulações de DM com o programa GROMACS. Abrir o arquivo `linhas_top.txt` na pasta `din_files/`, que contém as linhas necessárias. Abaixo está um exemplo. Salvar o arquivo `lig.itp` modificado como **lig.top**.

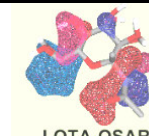
```
;
;
;   This file was generated by PRODRG version AA081006.0504
;   PRODRG written/copyrighted by Daan van Aalten
;   and Alexander Schuettelkopf
;
;   Questions/comments to dava@davapcl.bioch.dundee.ac.uk
;
;   When using this software in a publication, cite:
;   A. W. Schuettelkopf and D. M. F. van Aalten (2004).
;   PRODRG - a tool for high-throughput crystallography
;   of protein-ligand complexes.
;   Acta Crystallogr. D60, 1355--1363.
;
;
;#include "ffG43a1.itp"

[ moleculetype ]
; Name nrexcl
LIG      3

[ atoms ]
;  nr      type  resnr resid  atom  cgnr  charge  mass
   1       OM    1  LIG    O2    1    -0.635  15.9994
   2       C     1  LIG    C7    1     0.270  12.0110
   3       OM    1  LIG    O3    1    -0.635  15.9994
...

   8  7  6  5  1    0.0  3.8 3    0.0  3.8 3 ; dih  C4  C3  O1  C2
   9  8  7  6  1    0.0  5.9 3    0.0  5.9 3 ; dih  C5  C4  C3  O1

```



LQTA-QSAR

lqta@iqm.unicamp.br

```

10  9  8  7  1    0.0  5.9 3    0.0  5.9 3 ; dih  C1  C5  C4  C3
 5 10  9  8  1    0.0  5.9 3    0.0  5.9 3 ; dih  C2  C1  C5  C4


; Include water topology
#include "spc.itp"

; Include generic topology for ions
#include "ions.itp"

[ system ]
; Name
Ligantes em água

[ molecules ]
; Compound      #mols
LIG              1
(Deixar uma linha em branco no fim do arquivo) ← ATENÇÃO

```

Trocar as entradas PDB por LIG, tanto no arquivo **gro** como no **top**, com o auxílio do editor de textos do WinSCP ferramenta .

Para realizar as simulações de DM são necessários arquivos com as especificações deste procedimento. Tais arquivos se encontram na pasta `din_files/`.

Copiar todos os arquivos (\*.mdp) para a pasta do correspondente ligante.

Os arquivos **.mdp** contêm todas as informações necessárias no decorrer das simulações de DM. É conveniente examiná-los.

Com o programa PUTTY executar os comandos para criar a caixa de solvente ao redor do ligante, a fim de iniciar as simulações de DM.

```

editconf -bt cubic -f lig.gro -o lig_box.gro -d 1.0
genbox -cp lig_box.gro -cs spc216.gro -o lig_h2o.gro -p lig.top

```

Se o sistema não tiver carga neutra será necessário adicionar íons à caixa cúbica gerada. Para o sistema com carga neutra, apenas **renomear o arquivo lig\_h2o.gro para st.gro** e pular para a próxima página seção **Dinâmicas**.

```

grompp -f st.mdp -c lig_h2o.gro -p lig.top -o st.tpr
genion -s st.tpr -np(-nn) 1 -o st.gro

```

Os *flags* `-np` e `-nn` significam número de cátions e número de íons, respectivamente. Adicionar tais números conforme a carga total do sistema indicada pelo log do primeiro comando `grompp`. Exemplo: **System has non-zero total charge: -1.000000e+00**. Nesse caso usar `-np 1` para neutralizar a carga negativa do sistema. Selecionar 2 (SOL).

Editar o final do arquivo `st.gro` substituindo **Na** por **NA+** (ou **CL-** para cloreto). Adicionar no final do arquivo `lig.top` a linha:

```
NA+      1
```

Descontar do número de SOL o número de íons adicionados.

Exemplo. No final do arquivo `lig.top`

```
SOL              557 ← descontar 1 do valor
```

```
CL-              1 ← adicionar 1 CL- ou NA+
```

**Dinâmicas:** Em uma simulação de DM se tem diversas etapas, dentre elas: otimização de geometria, estabilização e aquecimento do sistema. A fim de evitar o procedimento entediante de digitação de comandos podem-se criar *scripts* que executam os comandos sucessivamente.

Copiar e visualizar o arquivo **din\_script** para a pasta onde as simulações de DM serão realizadas. O *script* está apresentado no quadro abaixo.

```
#
# OTM
#
grompp -f st.mdp -c st.gro -p lig.top -o st.tpr -maxwarn 6
mdrun -s st.tpr -o st.trr -c cg.gro -g st.log -e st.edr
grompp -f cg.mdp -c cg.gro -p lig.top -o cg.tpr -maxwarn 6
mdrun -s cg.tpr -o cg.trr -c pr.gro -g gs.log -e cg.edr
#
# Dinamica
#
# PR
grompp -f pr.mdp -c pr.gro -p lig.top -o pr.tpr -maxwarn 6
mdrun -s pr.tpr -o pr.trr -c md50.gro -g pr.log -e pr.edr
# 50 K
```

```
grompp -f md50.mdp -c md50.gro -p lig.top -o md50.tpr -maxwarn 6
mdrun -s md50.tpr -o md50.trr -c md100.gro -g md50.log -e md50.edr
# 100 K
grompp -f md100.mdp -c md100.gro -p lig.top -o md100.tpr -maxwarn 6
mdrun -s md100.tpr -o md100.trr -c md200.gro -g md100.log -e md100.edr
# 200 K
grompp -f md200.mdp -c md200.gro -p lig.top -o md200.tpr -maxwarn 6
mdrun -s md200.tpr -o md200.trr -c md350.gro -g md200.log -e md200.edr
# 350 K
grompp -f md350.mdp -c md350.gro -p lig.top -o md350.tpr -maxwarn 6
mdrun -s md350.tpr -o md350.trr -c md300.gro -g md350.log -e md350.edr
# 300 K
grompp -f md300.mdp -c md300.gro -p lig.top -o md300.tpr -maxwarn 6
mdrun -s md300.tpr -o md300.trr -c pmd.gro -g md300.log -e md300.edr
#
# Remove
#
rm \#*
```

Para executar um *script* basta alterar as autorizações do arquivo:

```
chmod a+x din_script ← Tornar o arquivo executável
```

```
./din_script ← Executar o commando
```

***Se algo tiver sido realizado de forma incorreta, nesta etapa do tutorial aparecerão os erros***

Ao término da simulação (md300.log), repetir a operação para os outros dois compostos de modo a obter três conjuntos de arquivos **md300.\*** (uma simulação de DM para cada composto em pasta individuais).

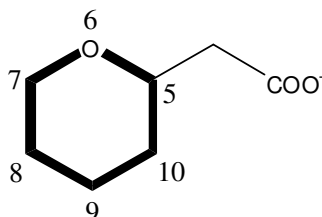
### 3. Alinhamento

Para se obter os descritores de QSAR-4D é necessário, primeiramente, alinhar os átomos de uma trajetória (um ligante) e das demais trajetórias (outros ligantes), utilizando um composto como referência. Até aqui, cada usuário calculou três arquivos trajetória, ou seja, três perfis de amostragem conformacional (PAC). Escolher uma das pastas, que contém as simulações de DM, para ser a referência (renomear essa pasta para *ref*). As outras duas simulações serão alinhadas considerando o **alinhamento *ref***.



### 3.1 Alinhamento ref/

O alinhamento das conformações é também realizado através de *script*, o **PAC\_ref\_make**. Esse *script* é capaz de criar um PAC com o auxílio de um arquivo que contém a numeração dos átomos que se deseja alinhar. No caso deste tutorial, o alinhamento considerará somente os átomos do anel, como indicado na figura abaixo.



O arquivo **PAC\_atoms.ndx** (apresentado a seguir) contém os átomos considerados no alinhamento. O **PAC\_ref\_make** e **PAC\_atoms.ndx** estão na pasta `din_files/`. Tais átomos devem ser determinados previamente com auxílio de um programa de visualização ou inspeção do arquivo `lig.gro` ou `top`.

```
[ PAC atoms ]
```

```
5 6 7 8 9 10
```

A análise cuidadosa do arquivo de alinhamento **PAC\_ref\_make** permite ao usuário a modificação do mesmo para atender as necessidades particulares de cada estudo. Por exemplo, quando o CL for escolhido como contração deve-se substituir as entradas NA+ por CL- .

```
chmod a+x PAC_ref_make
```

```
./PAC_ref_make
```

Ao executar o arquivo o usuário será questionado sobre o tempo inicial para o alinhamento. Nesta etapa, pode-se escolher o tempo que julgar apropriado baseando-se na estabilização do sistema. Ferramentas do GROMACS como `g_rms`, `g_energy`, etc, podem indicar o equilíbrio do sistema. Para esse tutorial, utilizar **20** (ps) como tempo inicial.

Quando o usuário for questionado sobre o grupo para o *least square fit*, selecionar 0 (zero) ou *system* duas vezes. Logo em seguida, os *frames* obtidos serão listados. Basta digitar o número do maior frame. Se tudo correr bem (**PAC\_atoms.ndx** corretos), dois arquivos de saída **PAC\_ref.gro** e **PAC\_ref.pdb** serão fornecidos. O arquivo `pdb` é usado para a inspeção visual e o arquivo `gro` será aproveitado pelo módulo LQTAgrid.

### 3.2 Demais alinhamentos

Com a molécula de referência alinhada é necessário, agora, alinhar os demais *frames* utilizando-a como referência. Com o *script* **PAC\_make** e o novos arquivos **PAC\_atoms.ndx** pode-se obter os outros PAC.

Editar o arquivo **PAC\_atoms.ndx** para que o anel seja alinhado com a molécula em *ref/*. Observar a mesma sequência. Feito isso, executar o *script* **PAC\_make**.

```
chmod a+x PAC_ref_make  
./PAC_ref_make
```

Repetir o procedimento para a próxima molécula.

### 4. Obtenção dos descritores de interação de energia com o módulo LQTAgrid

Nesse ponto, o usuário já possui: 3 PACS (1 **PAC\_ref.gro** e 2 **PAC\_done.gro**), 3 arquivos **lig.top**, 3 arquivos **\*\*mol2**, um para cada composto: ânion, cátion e molécula neutra. Renomear os arquivos de maneira a não confundir os para a mesma pasta no Windows.

Exemplo

```
PAC_ref.gro → PAC_anion.gro      lig.top → anion.top  
PAC_done.gro → PAC_cation.gro    lig.top → cation.top  
PAC_done.gro → PAC_neutra.gro    lig.top → neutra.top
```

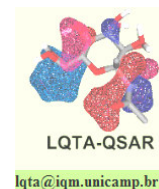
As cargas ChelpG serão utilizadas neste momento. O programa em Java **mol2totop** ajuda na conversão das cargas do arquivo **mol2** para o arquivo **top**. No Windows, copiar o programa **mol2totop** para a pasta com todos os arquivos e executá-lo com o auxílio do prompt de comando do Windows:

**Iniciar → executar → cmd**. Copiar **mol2totop.jar** para a pasta com os arquivos e executar o comando:

```
java -jar mol2totop.jar
```

Seguir as instruções

Editar o arquivo de saída do **mol2totop** com um programa de edição de textos. Dar preferência aos programas com o modo de seleção em bloco como o TextPad. No **TextPad Configure → Block Select Mode**. Com este recurso, a opção



de selecionar apenas colunas é ativada. Selecionar a coluna do arquivo de saída, copiar e colar sobre a coluna de cargas do arquivo **xx.top**.

The first screenshot shows the file `anion.txt` with the following content:

```
O2 -0.854
C7 0.988
O3 -0.841
C6 -0.317
C2 0.540
O1 -0.627
C3 0.271
C4 -0.094
C5 0.030
C1 -0.095
```

The second screenshot shows the file `anion.top` with the following content:

```
.....
This file was generated by PRODRG version AA081006.0504
PRODRG written/copyrighted by Daan van Aalten
and Alexander Schuettelkopf
.....
Questions/comments to dava@davapc1.bioch.dundee.ac.uk
.....
When using this software in a publication, cite:
A. W. Schuettelkopf and D. M. F. van Aalten (2004).
PRODRG - a tool for high-throughput crystallography
of protein-ligand complexes.
Acta Crystallogr. D60. 1355--1363.
.....
#include "ffG43a1.itp"
[ moleculetype ]
: Name nrexcl
LIG 3
[ atoms ]
: nr type resnr resid atom cgnr charge mass
1 OM 1 LIG O2 1 -0.854 15.9994
2 C 1 LIG C7 1 0.988 12.0110
3 OM 1 LIG O3 1 -0.841 15.9994
4 CH2 1 LIG C6 1 -0.317 14.0270
5 CH1 1 LIG C2 1 0.540 13.0190
6 OA 1 LIG O1 1 -0.627 15.9994
7 CH1 1 LIG C3 1 0.271 14.0270
8 CH1 1 LIG C4 2 -0.094 14.0270
9 CH1 1 LIG C5 2 0.030 14.0270
10 CH1 1 LIG C1 2 -0.095 14.0270
[ bonds ]
: ai aj fu c0. c1.
2 1 2 0.125 13400000.0 0.125 13400000.0 : C7 O2
2 3 2 0.125 13400000.0 0.125 13400000.0 : C7 O3
2 4 2 0.153 71500000.0 0.153 71500000.0 : C7 C6
```

Substituir as vírgulas por pontos (separação de números) no arquivo de saída do mol2totop.

Posicionadas as cargas ChelpG nos arquivos **top**, iniciar o cálculo dos descritores de interação de energia entre os compostos e os átomos ou grupos ou fragmentos de prova, com o módulo LQTagrid. O módulo LQTagrid necessita de um arquivo que contenha o caminho dos arquivos de PAC e de topologia do GROMACS ( exemplo abaixo). Criar um arquivo que contemple os seus arquivos e salvar como **lista.txt** (Exemplo na próxima página):



C:\Documents and Settings\LQTAMINI\Desktop\pac\ PAC\_anion.gro  
 C:\Documents and Settings\LQTAMINI\Desktop\pac\anion.top  
 C:\Documents and Settings\LQTAMINI\Desktop\pac\ PAC\_cation.gro  
 C:\Documents and Settings\LQTAMINI\Desktop\pac\cation.top  
 C:\Documents and Settings\LQTAMINI\Desktop\pac\ PAC\_neutra.gro  
 C:\Documents and Settings\LQTAMINI\Desktop\pac\neutra.top

Outra informação necessária é o tamanho e posicionamento da grade virtual que deve envolver os PACs dos compostos do conjunto investigado. Tal caixa pode ser criada *manualmente* observando-se as coordenadas do arquivo .gro ou com o auxílio do programa AutoDock Tools. Instruções na figura abaixo.

Abra qualquer arquivo PAC\_XX.pdb e copie somente a primeira conformação e salve em um arquivo separado e abra tal arquivo com Autodock Tools.

Clique no átomo que julgar central no arquivo pdb que abriu

Modificando as dimensões em x, y e z, crie uma caixa que julgar grande o suficiente para encerrar toda a molécula.

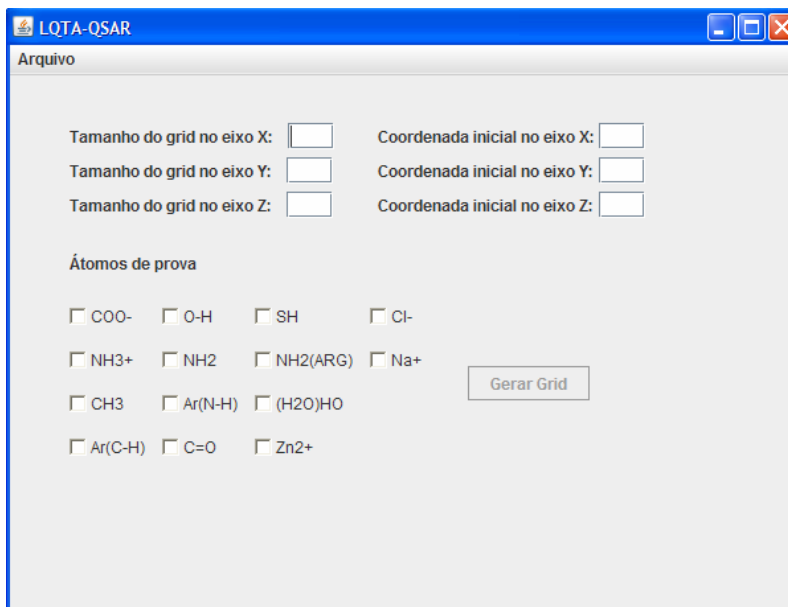
Arredonde os campos Center Grid Box para um maior inteiro.

Número de pontos na grade

Atribua 1.000 para esse campo

Certifique-se que x, y e z-dimension são números pares  
 Anote os valores x-dimension y-dimension z-dimension  
 x center, y center e z center.

Com clique duplo executar o módulo LQTAgrid que se encontra na pasta do minicurso. A figura abaixo apresenta uma janela do programa. (Pode ser executado pelo comando `java -jar LQTAgrid.jar`)



Abriu o arquivo **lista.txt** no menu Arquivo, selecionar um fragmento de prova (exemplo NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), inserir o tamanho da grade e as coordenadas iniciais da grade. O campo **tamanho do grid nos eixos** são as mesmas dimensões do AutoGrid e as coordenadas iniciais podem ser calculadas facilmente pelas fórmulas abaixo:

Coordenada inicial no eixo X = **x center** – 0,5 (*x-dimension*)

Coordenada inicial no eixo Y = **y center** – 0,5 (*y-dimension*)

Coordenada inicial no eixo Z = **z center** – 0,5 (*z-dimension*)

Clicar em Gerar Grid. Terminado o cálculo, salvar o arquivo onde desejar. Checar o arquivo salvo. A figura abaixo mostra um plot dos descritores de interação de energia gerados no LQTAgrid. Os grupos à esquerda correspondem aos descritores de Coulomb e os grupos à direita aos descritores de Lennard-Jones (criado no MATLAB, dados autoescalados, sonda NH<sub>3</sub><sup>+</sup>).

