

RAFAEL RODRIGUES DO NASCIMENTO

Estudo conformacional do peptídeo IAN
e seus fragmentos pelo método de análise
sistemática reduzida

Dissertação apresentada para obtenção do
título de Mestre em Biofísica Molecular, área
de Biofísica Molecular junto ao Programa de
Pós-Graduação em Biofísica Molecular do
Instituto de Biociências, Letras e Ciências
Exatas da Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São
José do Rio Preto.

Orientador: Profa. Dra. Aline Thaís Bruni

RAFAEL RODRIGUES DO NASCIMENTO

Estudo conformacional do peptídeo IAN e seus fragmentos pelo método de análise sistemática reduzida

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Biofísica Molecular, área de Biofísica Molecular junto ao Programa de Pós-Graduação em Biofísica Molecular do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Aline Thaís Bruni
Professor Doutor
USP - Ribeirão Preto
Orientador

Prof. Dr. Alexandre Pereira Chahad
Professor Doutor
FATEC - Americana

Prof. Dr. Elso Drigo Filho
Professor Doutor
UNESP - São José do Rio Preto

São José do Rio Preto, 07 de Outubro de
2009

Nascimento, Rafael Rodrigues do.

Estudo conformacional do peptídeo IAN e seus fragmentos pelo método de análise sistemática reduzida / Rafael Rodrigues do Nascimento. - São José do Rio Preto : [s.n.], 2009.

68 f. : il. ; 30 cm.

Orientadora: Aline Thaís Bruni

Co-Orientador: Vitor Barbanti Pereira Leite

Dissertação(mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas

1. Biofísica molecular. 2. Moléculas - Estrutura. 3. Peptídios. 4. Superfície de energia potencial. 5. Mecânica quântica. I. Bruni, Aline Thaís. II. Leite, Vitor Barbanti Pereira. III. Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. VI. Título.

CDU - 577.32

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca do IBILCE

Campus de São José do Rio Preto - UNESP

*“Quando você atravessar as águas,
Eu estarei com você.
Quando você atravessar os rios,
eles não o encobrirão.
Quando você andar através do fogo,
não se queimará.
As chamas não o deixarão em brasas.
Pois Eu sou o Senhor,
o seu Deus, o Santo de Israel, o seu Salvador...”*
Isaías 43.2-3b

*Dedico a Deus e
à minha família*

Agradecimentos

Primeiramente a Deus que me deu tudo o que foi preciso para realizar este trabalho.

Meus sinceros agradecimentos a Orientadora Profa. Dra. Aline Thaís Bruni e ao Orientador Prof. Dr. Vitor Barbanti Pereira Leite pela orientação neste trabalho científico. Por sua paciência. Por acreditarem em mim. Por que fizeram com que me apaixonasse pela ciência.

Aos professores da UNESP que me deram a bagagem intelectual. Em especial, os que me incentivaram a não desistir: ao Prof. Dr. José Roberto Ruggiero que devido as suas conversas, me mostrou novos caminhos e desafios. Ao Prof. Dr. Elso Drigo Filho que com sua ajuda, inclusive nesta dissertação, me incentivou a continuar. Ao Prof. Dr. Jorge Chahine pela sua didática impressionante como professor que me fez ver uma física mais simples. Ao Prof. Dr. Marinonio Cornélio demonstrando que é necessário ser empreendedor. Aos Professores Antonio Aydar (Toninho) e Célia (Celinha) pela oportunidade de estudar no Colégio São José e também estudar no cursinho Anglo. E é claro, como professores do ensino médio da área de exatas (química e física) me impulsionaram nos meus primeiros passos nesta maravilhosa área.

E não posso esquecer da minha família que sempre me incentivou e me apoiou a continuar a estudar, pois este é o meu futuro.

Aos amigos do mestrado: Gabriel e Tâmara, que dividiram sala comigo durante o período do curso sempre com boa convivência e com quem tive oportunidade de conversar a respeito desse projeto. E claro, ao Daniel na amizade e no auxílio no Programa Gaussian98.

Especialmente, agradeço também a Lucy que pacientemente ouviu as prévias e sugeriu algumas modificações neste trabalho.

Obrigado Deus porque o Senhor e estas pessoas estiveram comigo nos momentos difíceis e também nos momentos agradáveis durante este período.

Sumário

Agradecimentos	p. iii
Lista de Figuras	p. vi
Lista de Tabelas	p. viii
Lista de Siglas	p. x
Resumo	p. xi
Abstract	p. xii
1 Introdução	p. 1
2 Motivações e Objetivos	p. 5
3 Fundamentos Teóricos	p. 6
3.1 Métodos Determinísticos	p. 6
3.1.1 Análise Conformacional Sistemática Completa	p. 6
3.1.2 Análise Conformacional Sistemática Reduzida - MASP	p. 7
3.2 O Método Semi-Empírico AM1	p. 9
3.3 Quimiometria.	p. 13
4 Sistema estudado	p. 15
5 Procedimento Computacional	p. 17
5.1 Procedimento Padrão – MASP	p. 17
5.1.1 Primeira Rotação: Análise Conformacional	p. 17
5.1.2 Segunda Rotação: Refinamento	p. 18

5.1.3	Otimização Final	p. 19
5.2	Estudo de Crescimento de Cadeia	p. 20
5.3	Análise Conformacional Sistemática Completa	p. 21
6	Resultados	p. 22
6.1	MASP: Peptídeo IAN	p. 22
6.2	MASP: Crescimento de Cadeia	p. 32
6.3	Análise Conformacional Sistemática Completa	p. 36
7	Conclusões e Discussão	p. 37
	Referências Bibliográficas	p. 40
	Apêndice A – Apêndice	p. 44

Lista de Figuras

1.1	<i>Exemplo de porção da Superfície de Energia Potencial.</i>	p. 1
1.2	<i>Disposição dos mínimos de energia encontrados por Becker e Karplus[2] pelo método do mapeamento topológico.</i>	p. 3
3.1	<i>Exemplo de diedro em uma molécula ABCD.</i>	p. 7
3.2	<i>Visualização do ângulo diedro na molécula ABCD.</i>	p. 7
3.3	<i>Crescimento do No. de conformações: Análise Conformacional Completa versus MASP.</i>	p. 8
3.4	<i>Exemplo da PCA aplicada a uma distribuição de pontos.</i>	p. 14
4.1	<i>Tetrapeptídeo IAN.</i>	p. 15
4.2	<i>Mapa de Ramachandran.</i>	p. 16
5.1	<i>Representação esquemática da permutação cíclica sobre a matriz contendo os dados de energia. $[E](i, j)$ são matrizes simétricas.</i>	p. 18
5.2	<i>Exemplo de matriz com os valores discretos para cada ângulo de rotação. . .</i>	p. 18
5.3	<i>Fluxograma do Procedimento Computacional Padrão necessário para o MASP.</i>	p. 19
5.4	<i>Fragmentação do peptídeo IAN em moléculas com 4 a 10 ligações com rotações livres.</i>	p. 20
6.1	<i>Gráfico referente à Análise de Componentes Principais da matriz de energia total de uma conformação de partida do peptídeo IAN.</i>	p. 23
6.2	<i>Gráfico referente à PCA de um dos diedros estudados do peptídeo IAN. . . .</i>	p. 23
6.3	<i>Gráfico referente à PCA submetida depois do refinamento para um dos ângulos analisados para uma dada conformação de partida do peptídeo IAN.</i>	p. 24
6.4	<i>Sobreposição das estruturas de chegada 1, 5, 6, 9 e 10 estudadas pelo MASP.</i>	p. 25
6.5	<i>Sobreposição das estruturas de chegada 4, 7 e 8 estudadas pelo MASP. . . .</i>	p. 26
6.6	<i>Sobreposição das estruturas de chegada 2 e 3 estudadas pelo MASP.</i>	p. 26
6.7	<i>Disposição energética obtida para um cálculo SP dos mínimos encontrados por Becker e Karplus[2] (em preto) e pelo MASP (em vermelho).</i>	p. 27

- 6.8 *Disposição energética dos mínimos otimizados de Becker e Karplus[2] (em preto) e dos mínimos obtidos com o MASP (em vermelho) para o peptídeo IAN.* p. 27
- 6.9 *Sobreposição dos mínimos encontrados pelo Becker e Karplus sobre Grupo 1.* p. 30
- 6.10 *Sobreposição dos mínimos encontrados pelo Becker e Karplus sobre Grupo 2.* p. 30
- 6.11 *Sobreposição dos mínimos encontrados pelo Becker e Karplus sobre Grupo 3.* p. 31
- 6.12 *Disposição energética das conformações de partida otimizadas (em preto) e dos mínimos encontrados com o MASP (em vermelho) para o peptídeo IAN.* . p. 31
- 6.13 *Disposição dos valores dos mínimos de energia encontrados agrupados de acordo com os tamanhos dos fragmentos do peptídeo e dele próprio.* p. 33
- 6.14 *Disposição dos valores dos mínimos de energia que se encontram a uma diferença energética de 4 kcal mol^{-1} da conformação de mais baixa energia.* p. 34
- 6.15 *Disposição energética das conformações de partida otimizadas (em preto) e dos mínimos encontrados com o MASP (em vermelho) para o fragmento com 7 diedros.* p. 35
- 6.16 *Comportamento energético dos fragmentos de 4 diedros para análise completa completa e reduzida por pares.* p. 36

Lista de Tabelas

6.1	<i>As energias, em kcal mol⁻¹, e os ângulos-diedros das conformações de partida estudadas pelo MASP.</i>	<i>p. 22</i>
6.2	<i>As energias, em kcal mol⁻¹, e os ângulos-diedros dos mínimos (chegadas) obtidos pelo MASP.</i>	<i>p. 24</i>
6.3	<i>As energias e os ângulos diedros dos 45 menores mínimos encontrados para o peptídeo IAN no artigo do Becker e do Karplus[2] são agrupados de acordo com suas respectivas bacias. As energias, em kcal mol⁻¹, são dadas relativa ao menor mínimo (#1) da PES.</i>	<i>p. 28</i>
6.4	<i>Energia e ângulos diedros das conformações dos mínimos encontrados por Becker e Karplus[2] depois da otimização no método semi-empírico AM1 no Gaussian98. A energia está em kcal mol⁻¹.</i>	<i>p. 29</i>
6.5	<i>O Número de conformações de partida estudadas para cada fragmento do peptídeo IAN.</i>	<i>p. 32</i>
6.6	<i>O número de conformações de chegada que estão dentro da diferença de 4 kcal mol⁻¹ da conformação de mais baixa energia segundo o tamanho da estrutura.</i>	<i>p. 34</i>
6.7	<i>O valor de mais baixa energia e a média dos valores dos mínimos de energia encontrados para os oito tipos de estruturas/kcal mol⁻¹.</i>	<i>p. 35</i>
A.1	<i>Energia e ângulos-diedros das conformações de partida estudadas com 4 diedros pelo MASP.</i>	<i>p. 44</i>
A.2	<i>Energia e ângulos-diedros das conformações de partida estudadas com 5 diedros pelo MASP.</i>	<i>p. 45</i>
A.3	<i>Energia e ângulos-diedros das conformações de partida estudadas com 6 diedros pelo MASP.</i>	<i>p. 46</i>
A.4	<i>Energia e ângulos-diedros das conformações de partida estudadas com 7 diedros pelo MASP.</i>	<i>p. 47</i>

A.5	<i>Energia e ângulos-diedros das conformações de partida estudadas com 8 diedros pelo MASP.</i>	p. 48
A.6	<i>Energia e ângulos-diedros das conformações de partida estudadas com 9 diedros pelo MASP.</i>	p. 49
A.7	<i>Energia e ângulos-diedros das conformações de partida estudadas com 10 diedros pelo MASP.</i>	p. 49
A.8	<i>Energia e ângulos-diedros das conformações de partida estudadas com 13 diedros pelo MASP.</i>	p. 49
A.9	<i>Energia e ângulos-diedros dos mínimos encontrados com 4 diedros pelo MASP.</i>	p. 50
A.10	<i>Energia e ângulos-diedros dos mínimos encontrados com 5 diedros pelo MASP.</i>	p. 50
A.11	<i>Energia e ângulos-diedros dos mínimos encontrados com 6 diedros pelo MASP.</i>	p. 51
A.12	<i>Energia e ângulos-diedros dos mínimos encontrados com 7 diedros pelo MASP.</i>	p. 51
A.13	<i>Energia e ângulos-diedros dos mínimos encontrados com 8 diedros pelo MASP.</i>	p. 52
A.14	<i>Energia e ângulos-diedros dos mínimos encontrados com 9 diedros pelo MASP.</i>	p. 52
A.15	<i>Energia e ângulos-diedros dos mínimos encontrados com 10 diedros pelo MASP.</i>	p. 53
A.16	<i>Energia e ângulos-diedros dos mínimos encontrados com 13 diedros pelo MASP.</i>	p. 53

Lista de Siglas

AM1	<i>Austin Model 1</i>
CHARMM	<i>Chemistry at HARvard Macromolecular Mechanics</i>
IAN	<i>Isobutyryl-Ala3-NH-methyl</i>
MASP	<i>Metodologia de Análise conformacional Sistemática por Pares</i>
MM	<i>Mecânica Molecular</i>
MNDO	<i>Modified Neglect of Diatomic Overlap)</i>
PC	<i>Principal Component</i>
PCA	<i>Principal Component Analysis</i>
PDB	<i>Protein Data Bank</i>
PES	<i>Potential Energy Surfaces</i>
SD	<i>Step Descent</i>
SP	<i>Single Point</i>

Resumo

Neste trabalho foi utilizada a **Metodologia de Análise conformacional Sistemática por Pares (MASP)**[1] para estudar o peptídeo IAN e fragmentos menores. Nesta metodologia, a análise conformacional é feita de maneira sistemática analisando as combinações de pares de ângulos diedros que compõem o peptídeo avaliado. As energias referentes a cada conformação foram obtidas por meio do método mecânico-quântico semi-empírico AM1. As regiões de menor energia nas Superfícies de Energia Potencial (PES - *Potential Energy Surface*) foram obtidas com auxílio de quimiometria, por meio da Análise de Componentes Principais (PCA - *Principal Component Analysis*). Um dos objetivos do trabalho é determinar um limite do número de graus de liberdade (diedros) sob o qual a aproximação por pares do MASP pode ser feita. Para o peptídeo IAN, com 11 diedros consecutivos, foi possível reproduzir grande parte da PES[2]. Foram estudadas 117 conformações diferentes do peptídeo IAN e seus fragmentos, cujos tamanhos variaram de 4 a 11 e casos adicionais com 13 diedros. Os resultados deste trabalho mostraram que o valor do mínimo de energia diminui com o aumento do tamanho da molécula estudada. Para fragmentos com 4 diedros, o MASP reproduz toda a PES quando comparada com a Análise Conformacional Sistemática Completa. Quando o MASP é aplicado aumentando o tamanho da cadeia, em alguns casos as energias das conformações de partida otimizadas eram menores que as energias das conformações finais. Estes resultados sugerem que o MASP é factível com um limite superior de seis ângulos de diedro.

Abstract

In this work the Systematic Conformational Analysis by Pairs Method (MASP)[1] was used to study the IAN peptide and its fragments. In this method, the conformational analysis is carried out in a systematic procedure analyzing combinations of dihedral angles pairs of the investigated peptide. Energies associated with each conformation were obtained through semi-empirical quantum-mechanic method AM1. Low energy regions of the Potential Energy Surface (PES) were obtained with help of chemometrics, using Principal Component Analysis (PCA). One of the goals of this work is to determine the upper limit of number of degrees of freedom (dihedral angles) under which the MASP can be successfully applied. For the peptide IAN, with 11 dihedral angles, it was possible to obtain a considerable fraction of its PES [2]. 117 conformations of the IAN peptide and its fragments were studied, with sizes varying from 4 to 11 dihedrals, and additional cases with 13 dihedrals. The results show that the energy minimum decreases with the studied molecule size. For fragments with 4 dihedrals, MASP recover all PES when compared with a full systematic conformational analysis. Applying MASP with increasing size of the system, in some cases, it was observed that the energies for the optimized starting conformations were lower than the energies obtained for the final conformations. The results suggest that MASP is reliable with upper limit of six dihedral angles.

1 *Introdução*

Na ciência atual a determinação estrutural de moléculas tem um papel fundamental em áreas diversas como biologia, física e medicina. No caso de moléculas de interesse biológico, o conhecimento de suas conformações estruturais é crucial, uma vez que as suas funções estão intimamente ligadas às suas estruturas[3]–[5].

A determinação estrutural envolve análise conformacional. A análise conformacional é definida como estudo ou identificação do arranjo tridimensional dos átomos da molécula no espaço. Este arranjo pode ser interconvertido por rotações em torno de ligações simples[6, 7]. Cada conformação adquirida pela molécula está associada a uma dada energia potencial, portanto sendo possível construir Superfície de Energia Potencial (PES – *Potential Energy Surfaces*). As PES são caracterizadas por seus pontos de mínimo (configurações localmente estáveis) e por suas regiões de transição ligando estes mínimos[2]. Um exemplo de uma porção da PES é visualizado na Figura 1.1.

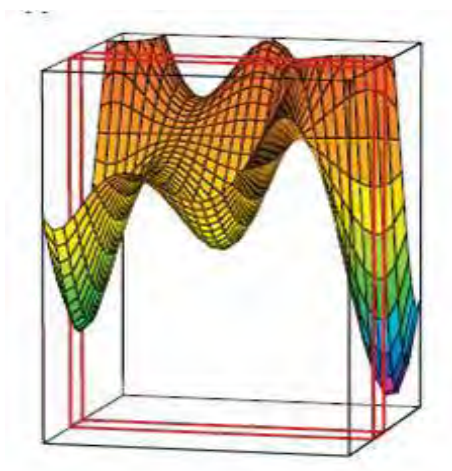


Figura 1.1: *Exemplo de porção da Superfície de Energia Potencial.*

A importância de se estudar a PES de uma molécula é que termodinamicamente, pela distribuição de Boltzmann, a conformação mais estável é a referente ao mínimo global, e por-

tanto, esta conformação determina as propriedades físico-químicas do sistema investigado.

A determinação estrutural de moléculas pode ser feita por métodos teóricos e experimentais. Raios X, espectroscopia de ressonância magnética e espalhamento de nêutrons são técnicas experimentais muito utilizadas para investigação de estruturas. Entretanto os métodos experimentais são dispendiosos financeiramente e em termos de tempo de preparo do sistema.

Diante dessa dificuldade surge a necessidade de métodos teóricos que resolvam o problema estimando, avaliando e prevendo resultados experimentais. Existe uma grande variedade de métodos teóricos que são capazes de localizar estruturas de mínima energia na Superfície de Energia Potencial - PES.

De uma maneira geral, é possível separar estes métodos em dois grandes grupos: estocásticos e determinísticos. Os mais comuns entre os estocásticos são geometria de distância[7], redes neurais [11, 12], algoritmo genético [13, 14], métodos de simulação (Monte Carlo e Dinâmica Molecular) [15]-[19]. O grande problema dos métodos estocásticos é não haver um ponto final natural para a busca conformacional. Em alguns casos, somente um pequeno subconjunto do espaço conformacional é explorado e a convergência do sistema não é garantida.

Os métodos determinísticos procuram estudar a PES sistematicamente e dentre eles podemos citar: Análise Sistemática Completa e o **MASP** (**M**étodo de **A**nálise **S**istemática por **P**ares). Estes dois métodos serão descritos nos Fundamentos Teóricos.

Antes de entrar nas descrições dos métodos determinísticos será exposto um exemplo de método teórico estocástico para o peptídeo IAN, que também foi estudado neste trabalho. Dois pesquisadores Becker O. M e Karplus M. por meio do mapeamento topológico da PES do peptídeo IAN encontraram diversos mínimos locais e, segundo os autores, um mínimo global[2]. O objetivo foi encontrar caminhos de enovelamento para uma dada estrutura de interesse. A estrutura de interesse é um mínimo local ou global de energia conhecido. Em resumo, o procedimento do mapeamento topológico foi construir o caminho entre duas estruturas (ou dois mínimos de energia) alterando a estrutura de partida (mínimo de partida) fazendo mudanças conformacionais de maneira a transformá-la na estrutura de chegada (mínimo de chegada). No meio do caminho, as estruturas intermediárias eram armazenadas e otimizadas dando origem a novos mínimos de energia, ou não quando obtidas as próprias estruturas de partida ou mínimos conhecidos. A otimização de uma estrutura, neste caso, é a minimização de energia potencial de maneira a encontrar o mínimo de energia mais próximo da região da PES, que pode ser feito por *Step Descent* (SD) ou gradiente de energia. Ressalta-se que neste procedimento a otimização de uma estrutura não garante que o mínimo alcançado é o mínimo global. Os mínimos de

energia foram organizados em grupos ou bacias. Estas bacias estão separadas por barreiras de energia que no processo do enovelamento protéico são superadas para alcançar ou visitar outros mínimos de energia. Os mínimos dentro das bacias são separados por barreiras de energia menores que alguns múltiplos de KT , sendo K a constante de Boltzmann e T a temperatura ambiente. A partir deste procedimento foi possível encontrar várias estruturas estáveis (mínimos locais) e em alguns casos encontrou-se o mínimo global. Na Figura 1.2, temos uma representação de todos os mínimos encontrados organizados em bacias por meio do mapeamento topológico do peptídeo IAN. As estruturas numeradas são mínimos locais e um global(#1), em destaque para #11 e #16 são estruturas em folha-beta e alfa-hélice, respectivamente.

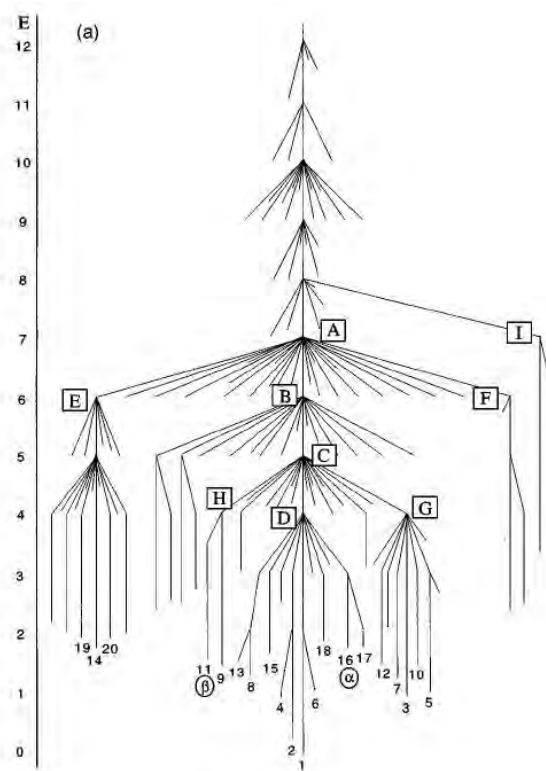


Figura 1.2: Disposição dos mínimos de energia encontrados por Becker e Karplus[2] pelo método do mapeamento topológico.

O pacote computacional de Mecânica Molecular (MM) utilizado para calcular a energia potencial destas estruturas foi o CHARMM (*C*hemistry at *H*ARvard *M*acromolecular *M*echanics) [10], bem conhecido e divulgado no meio científico. Entretanto, o CHARMM utilizando mecânica molecular para calcular a energia potencial não leva em consideração correlações eletrônicas muito importante em estudos de PES. A energia potencial é calculada conside-

rando que os átomos são massas pontuais carregadas. No entanto, a mecânica quântica exige que partículas tão pequenas, como os os elétrons e prótons, sejam descritas como funções de onda para cálculos da energia potencial de um sistema de átomos. Métodos computacionais de mecânica quântica, dentre estes os métodos semi-empíricos, são hoje muito utilizados entre a comunidade científica para estudo de moléculas pois dependendo do sistema são obtidos bom resultados de energia potencial e propriedades físicas. O método semi-empírico AM1 foi utilizado neste trabalho e será descrito nos Fundamentos Teóricos.

2 *Motivações e Objetivos*

O trabalho em questão tem como objetivo principal verificar se a aproximação por pares de ângulos diedros, feita pelo MASP, é suficiente para o estudar a PES. E ainda determinar um limite do número de diedros de uma molécula sob o qual esta aproximação pode ser feita sem que haja grande perda de informação.

Primeiramente com o objetivo de varrer a PES conhecida, foi utilizado o peptídeo IAN, com 11 ângulos-diedros. O peptídeo mesmo sendo composto de poucos átomos, apresenta muitas conformações possíveis, incluindo estruturas secundárias como alfa-hélice e folha-beta. E ainda hoje é utilizado como base no desenvolvimento de métodos de determinação estrutural[2]. O MASP foi aplicado ao peptídeo IAN e determinou grande parte do espaço conformacional. Motivando, portanto, a segunda parte deste trabalho: o estudo do Crescimento de Cadeia com fragmentos menores.

No Crescimento de Cadeia foi feita fragmentação do peptídeo IAN em estruturas de 4 a 10 ângulos de diedros com o intuito de estudar o comportamento energético com o aumento do grau de liberdade do sistema, quando utilizado o MASP. A Fragmentação foi útil também para comparar o método de análise conformacional reduzida com o método de análise conformacional completa. Esta comparação foi somente possível as estruturas com 4 ângulos de diedro. Além disso, o Crescimento de Cadeia foi importante para apontar o limite do número de ângulos-diedros consecutivos na cadeia principal no qual o método de análise sistemática por pares (MASP) é confiável.

3 *Fundamentos Teóricos*

3.1 Métodos Determinísticos

3.1.1 Análise Conformacional Sistemática Completa

Existe uma grande variedade de métodos teóricos que são capazes de localizar estruturas de mínima energia na Superfície de Energia Potencial, mas somente Análise Conformacional Sistemática Completa mapeia completamente o espaço conformacional. Denominada também por método de procura sistemática no qual, para uma geometria inicial, os ângulos de torção são variados por incrementos regulares realizando uma busca sobre todo o espaço conformacional, uma série de configurações deve ser gerada por rotação sistemática em torno das ligações simples, entre -180° e 180° [20].

Daremos importância à dificuldade inerente ao método de análise conformacional completa: a explosão combinatória. Na explosão combinatória, o número de conformações a serem estudadas cresce muito rapidamente com aumento do número de graus de liberdade ou diedros. No método de análise conformacional sistemática, o número de conformações possíveis é dado pela equação 3.1:

$$\text{Número de Conformações} = s^N, \quad (3.1)$$

na qual N é o número de ângulos com rotação livre, s é o número de passos, dados por $360^\circ/\theta_i$, com θ_i sendo o incremento de ângulo para o diedro i . Neste caso, é evidente que o Número de conformações é dado pela combinação da rotação de todos os N ângulos diedros da molécula.

O ângulo de diedro próprio é definido por b quando os átomos constituintes de uma molécula seguem o modelo da disposição de 4 átomos ligados conforme mostrado na Figura 3.1:

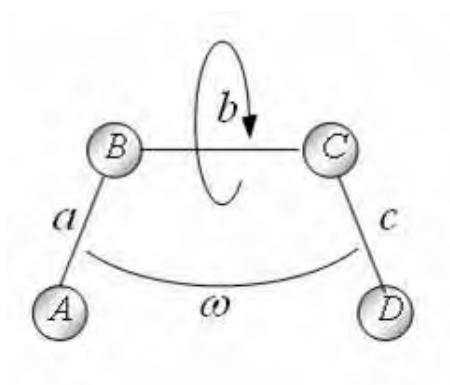


Figura 3.1: Exemplo de diedro em uma molécula ABCD.

Em três dimensões, a partir da Figura 3.1, podemos construir um plano azul que passa pelos átomos A, B e C. Da mesma maneira, um segundo plano verde pelos átomos B, C e D. O ângulo entre esses dois planos é chamado ângulo diedral ou diedro, conforme visto na Figura 3.2:



Figura 3.2: Visualização do ângulo diedro na molécula ABCD.

No problema da explosão combinatória ocorre que o número de conformações aumenta exponencialmente com o tamanho da molécula, ou seja, com o número de ligações que têm rotação livre. Quanto maior o número de ângulos com rotação livre maior se torna o problema.

3.1.2 Análise Conformacional Sistemática Reduzida - MASP

Em trabalho anterior de Bruni et. al., **J. Comput. Chem**, 23, 222 (2002)[1] uma nova metodologia foi introduzida para controlar a explosão combinatória na análise conformacional sistemática por meio de uma redução da dimensão do sistema. Com o objetivo de controlar a explosão combinatória foi usada a quimiometria[21] na análise conformacional sistemática.

Esta metodologia é, em resumo, uma análise conformacional sistemática reduzida, na qual o espaço conformacional é estudado por meio da rotação sistemática de pares. Se o

problema da explosão combinatória for controlado, o espaço conformacional pode ser suficientemente refinado nas regiões de mínima energia e, assim, nenhuma informação sobre o mínimo de energia é perdida.

As superfícies de energia são obtidas para cada par de ângulos. Segundo este método é possível calcular o número de conformações tal como:

$$\text{Número de Conformações} = s^2 \frac{N(N-1)}{2}, \quad (3.2)$$

na qual s e N têm a mesma definição da equação 3.1. O Número de conformações é dado pela combinação de pares dos N diedros constituintes da molécula.

Nota-se que o número de conformações provenientes da equação 3.1 aumenta exponencialmente com o número de ligações com rotação livre, enquanto que o número de conformações obtidas por meio da equação 3.2 aumenta quadraticamente com N . Assim, conforme o número de ângulos com rotação livre aumenta, a diferença no número de conformações entre estas duas equações torna-se mais evidente. Na Figura 3.3 pode ser visto o logaritmo do crescimento do Número de conformações com o Número de diedros das equações 3.1 e 3.2. A explosão do Número de conformações da Análise Conformacional Completa fica evidente comparado ao crescimento suave para o MASP, na Figura 3.3.

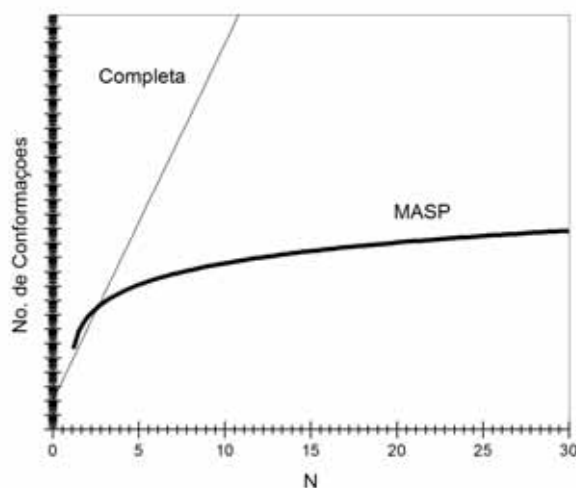


Figura 3.3: Crescimento do No. de conformações: Análise Conformacional Completa versus MASP.

3.2 O Método Semi-Empírico AM1

Neste trabalho foi utilizado o método semi-empírico AM1 (*Austin Model 1*)[22] para calcular a energia de cada conformação gerada pelo método de análise sistemática reduzida.

Para se calcular classicamente a energia de um sistema de partículas, basta somar as funções de energia cinética e energia potencial.

$$E = T + V. \quad (3.3)$$

Entretanto quando as partículas do sistema enfrentam o problema da dualidade onda-partícula a equação 3.3 deixa a desejar. Schrödinger propôs uma forma melhor de descrever a energia neste caso, usando o operador $\hat{H}$ e a equação 3.4:

$$\hat{H}\Psi = E\Psi. \quad (3.4)$$

As funções da energia cinética e energia potencial são transformadas em operadores $\hat{T}$ e $\hat{V}$. Reescrevemos a equação 3.3, como:

$$\hat{H} = \hat{T} + \hat{V}. \quad (3.5)$$

O operador $\hat{H}$ descreve o comportamento de todas as partículas do sistema que se encontram sob um campo de forças determinado pelo operador de energia potencial $\hat{V}$. Este operador $\hat{H}$ pode ser escrito da mesma maneira por[23]:

$$\hat{H} = -\sum_{i=1}^N \frac{1}{2} \nabla_i^2 + \sum_{A=1}^M -\frac{1}{2M_A} \nabla_A^2 - \sum_{i=1}^N \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{|\vec{r}_i - \vec{R}_A|} + \sum_{A=1}^M \sum_{B>A}^M \frac{Z_A Z_B}{|\vec{R}_A - \vec{R}_B|} + \sum_{i=1}^N \sum_{j>i}^N \frac{1}{|\vec{r}_i - \vec{r}_j|}. \quad (3.6)$$

Os dois primeiros termos desta equação 3.6 correspondem a energia cinética dos elétrons e dos núcleos, respectivamente. Neste caso o sistema é constituído de N elétrons e M núcleos. O terceiro termo refere-se à atração coulombiana entre os elétrons e os núcleos. Os dois últimos termos são devido à repulsão coulombiana entre os núcleos e a repulsão coulombiana entre os elétrons. Os vetores $\vec{r}_i$ e $\vec{r}_j$ representam os elétrons, sendo que $i = 1, \dots, N$ e $j = 1, \dots, N$. Os vetores $\vec{R}_A$ e $\vec{R}_B$ representam os núcleos, sendo que $A = 1, \dots, M$ e $B = 1, \dots, M$. Além disso, para simplificarmos a notação, foi utilizado $e = m_e = \hbar = 1$.

A equação de Schrödinger pode ser simplificada considerando a grande diferença entre

as massas do elétron e do núcleo. Para isso, a aproximação de Born-Oppenheimer[24] diz que as posições espaciais do núcleo são fixas em relação aos elétrons, fazendo com que a energia cinética dos núcleos possa ser considerada igual a zero e a repulsão coulombiana entre eles seja constante. O Hamiltoniano completo pode ser substituído pelo Hamiltoniano eletrônico:

$$\hat{H}_{el} = -\sum_{i=1}^N \frac{1}{2} \nabla_i^2 - \sum_{i=1}^N \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum_{i=1}^N \sum_{j>i}^N \frac{1}{r_{ij}} = \hat{T} + \hat{V}_{Ne} + \hat{V}_{ee}. \quad (3.7)$$

Neste Hamiltoniano eletrônico, $\hat{H}_{el}$, o primeiro termo corresponde à energia cinética dos elétrons. O segundo termo refere-se à atração coulombiana entre os núcleos e os elétrons, o terceiro termo refere-se à repulsão coulombiana entre os elétrons.

Considerando as simplificações acima, a equação de Schrödinger pode ser reescrita em termos do Hamiltoniano eletrônico:

$$\hat{H}_{el} \Psi_{el} = E \Psi_{el}. \quad (3.8)$$

Multiplicando os dois lados da equação 3.8 pela função de onda conjugada e integrando em todo espaço temos a expressão abaixo:

$$E = \frac{\int \Psi^* \hat{H} \Psi dv}{\int \Psi^* \Psi dv}. \quad (3.9)$$

No caso das funções de onda Ψ estarem normalizadas a integral no denominador é igual a 1.

Diante da equação 3.9, o princípio variacional revela que se a função de onda Ψ for usada para calcular a energia, o valor calculado nunca será menor do que a energia verdadeira. Sabe-se que a função de onda dos orbitais moleculares Ψ para sistemas poliatômicos pode ser escrita como aproximações do verdadeiro orbital molecular modelando-o por uma combinação linear das funções de ondas dos orbitais atômicos Ψ_i dos átomos que compõem a molécula[25]:

$$\Psi = \sum_i^N c_i \Psi_i. \quad (3.10)$$

Os coeficientes c_i são dependentes dos orbitais atômicos. E nos informam as proporções relativas dos orbitais atômicos que contribuem para o orbital molecular.

Neste caso, uma aproximação adicional que pode ser feita para um sistema com muitos átomos é descrever o Hamiltoniano em duas partes. A primeira parte é referente à camada de

valência do átomo. E a segunda, referente ao caroço do átomo, ou seja, todos os elétrons do átomo menos os da camada de valência. Esta separação é importante, pois diminuirá o tempo computacional uma vez que o número de variáveis foi drasticamente reduzido e o Hamiltoniano do caroço do átomo será parametrizado por meio de dados experimentais.

Deste modo, ao aplicar o método variacional[24] serão determinados os coeficientes c_i (equação 3.10) que tornem mínimo o valor de E da equação 3.9. Para isso, as relações matemáticas em que se obtêm este desejo correspondem a:

$$\frac{\partial E}{\partial c_1} = \frac{\partial E}{\partial c_2} = \frac{\partial E}{\partial c_3} = \dots = \frac{\partial E}{\partial c_N} = 0. \quad (3.11)$$

Para obter a expressão da energia E em termos de c_i é necessário primeiro resolver as integrais da relação 3.9. Começando pelo denominador da equação 3.9:

$$\int \Psi^* \Psi dv = \int \Psi^2 dv = c_1^2 + c_2^2 + \dots + c_N^2 + 2c_1c_2S_{12} + 2c_1c_3S_{13} + \dots + 2c_{N-1}c_N S_{(N-1)N}. \quad (3.12)$$

na qual S é a integral de overlap ou superposição das funções de onda. Ela representa uma ligação química. Deste modo, todos os c_i 's que acompanham S representam os átomos que têm ligação química. Ela pode ser escrita como:

$$S_{ij} = \int \Psi_i \Psi_j dv, \quad (3.13)$$

na qual S_{ij} representa a ligação entre o átomo i e j . O numerador da equação 3.9 pode ser escrito:

$$\int \Psi H \Psi dv = c_1^2 \alpha_1 + c_2^2 \alpha_2 + \dots + c_N^2 \alpha_N + 2c_1c_2\beta_{12} + 2c_1c_3\beta_{13} + \dots + 2c_{N-1}c_N\beta_{(N-1)N}, \quad (3.14)$$

sendo que $\alpha_i = \int \Psi_i \hat{H} \Psi_i dv$ e $\beta_{ij} = \int \Psi_i \hat{H} \Psi_j dv$.

A energia E descrita pela equação 3.9 pode ser obtida em função de α , β e S por meio das integrais (equações 3.12 e 3.14) descritas acima:

$$E = \frac{c_1^2 \alpha_1 + c_2^2 \alpha_2 + \cdots + c_N^2 \alpha_N + 2c_1 c_2 \beta_{12} + 2c_1 c_3 \beta_{13} + \cdots + 2c_{N-1} c_N \beta_{(N-1)N}}{c_1^2 + c_2^2 + \cdots + c_N^2 + 2c_1 c_2 S_{12} + 2c_1 c_3 S_{13} + \cdots + 2c_{N-1} c_N S_{(N-1)N}}. \quad (3.15)$$

Lançando mão da equação 3.11, ou seja, derivando a energia em relação a cada c_i e igualando todas as relações à zero tem-se um conjunto de equações seculares. Para determinar que o sistema de equações seculares tenha solução não-nula é necessário que o determinante secular seja zero, como visto abaixo:

$$\begin{vmatrix} \alpha_1 - E & \beta_{12} - ES_{12} & \beta_{13} - ES_{13} & \cdots & \beta_{1N} - ES_{1N} \\ \beta_{21} - ES_{21} & \alpha_2 - E & \beta_{23} - ES_{23} & \cdots & \beta_{2N} - ES_{2N} \\ \vdots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \beta_{N1} - ES_{N1} & \beta_{N2} - ES_{N2} & \beta_{N3} - ES_{N3} & \cdots & \alpha_N - E \end{vmatrix} = 0. \quad (3.16)$$

Resolvendo o determinante acima se chega à equação polinomial em função de E . As raízes desta equação polinomial são determinadas em função dos parâmetros α , β e S . Lançando mão destas raízes e utilizando-as em uma das equações seculares identificam-se relações de proporcionalidade entre os c_i 's. Substituído estas relações na equação 3.12 determina-se o valor de cada c_i . Deste modo, os melhores valores de c_i são obtidos para que a função do orbital molecular Ψ reproduza o comportamento do sistema na menor energia E ou no estado fundamental.

No entanto, o processo para determinar os melhores c_i 's ainda demanda um elevado tempo computacional. Para resolver isso, o método semi-empírico MNDO (*Modified Neglect of Diatomic Overlap*)[26] obtém os valores das integrais α e β utilizando valores experimentais obtidos de átomos isolados. E ainda para obter parâmetros devido à interação entre dois ou mais átomos são usados os valores calculados para moléculas cujas geometrias, calor de formação, potencial de ionização e momento dipolar são experimentalmente conhecidos.

O método AM1 (*Austin Model 1*)[22] que será utilizado neste trabalho é uma versão nova do método MNDO. Nesta versão foram parametrizadas as integrais dos átomos: H, B, C, Si, N, O, S, F, Cl, Br, I, Hg e Zn. Este método semi-empírico foi escolhido justamente por ser o melhor para estudar moléculas biológicas e por obter melhores resultados quando a molécula estudada tem interação de pontes de Hidrogênio.

O método de estrutura eletrônica AM1, escolhido no programa Gaussian98[27], cal-

cula a energia de cada conformação gerada na análise sistemática reduzida e todas as energias obtidas formam a PES.

3.3 Quimiometria.

Para investigar as PES geradas a técnica de Análise de Componentes Principais (PCA - *Principal Component Analysis*) mostrou-se útil para encontrar as conformações de mais baixa energia.

A Análise de Componentes Principais é um procedimento matemático usado para reduzir a dimensão da uma matriz de dados[28, 29]. A matriz original é representada por novas variáveis, chamadas *componentes principais* (PC) ou *fatores*. Uma componente principal (ou fator) é uma combinação linear de variáveis, conforme mostra a Equação 3.17:

$$\mathbf{p}_i = \sum_{j=1}^v c_{i,j} x_j, \quad (3.17)$$

na qual $\mathbf{p}_i$ é a i -ésima componente principal e $c_{i,j}$ é o coeficiente da variável x_j , em v variáveis.

A primeira componente principal de um conjunto de dados corresponde à combinação linear das variáveis que dão o melhor ajuste quando eles são diagramados no espaço de dimensões v . Ela maximiza a variância dos dados para que estes tenham seu maior desvio ao longo da primeira componente. A segunda componente principal e todas as subseqüentes são definidas em função da máxima variância dos dados ainda não quantificados pelas componentes principais anteriores. Todas as componentes principais são ortogonais entre si. A Figura 3.4 mostra um exemplo da construção da primeira(PC1) e da segunda(PC2) componentes principais para uma distribuição de pontos no espaço bidimensional v_1 e v_2 .

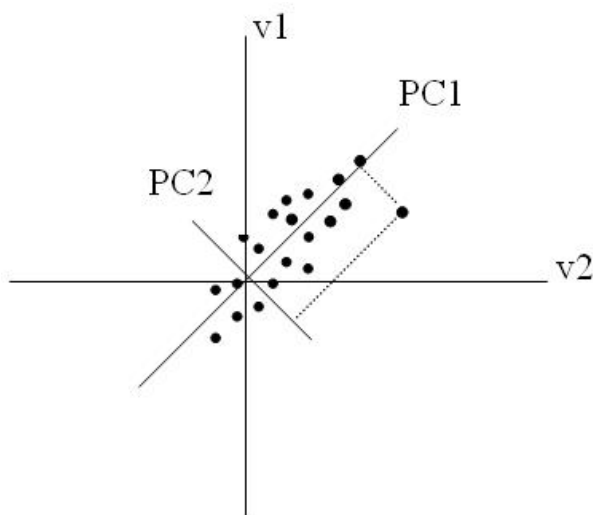


Figura 3.4: *Exemplo da PCA aplicada a uma distribuição de pontos.*

As distâncias entre as amostras são usadas para definir similaridades e diferenças, sendo também útil conhecer quais das variáveis contribuem mais para cada componente principal (dado fornecido pelos coeficientes $c_{i,j}$ da equação 3.17). As coordenadas das amostras em relação às PCs são os “scores”, enquanto que a contribuição de cada variável para as PCs são os “loadings”[30].

Neste trabalho a PCA foi útil para que a distribuição dos valores de energia obtidos pela rotação sistemática dos diedros fosse investigada e também para selecionar as regiões de mínima energia como será mostrado adiante na parte dos Resultados.

4 Sistema estudado

O tetrapeptídeo IAN (isobutyryl-Ala³-NH-methyl) foi o sistema estudado para avaliarmos o MASP. O peptídeo IAN tem 11 ângulos-diedros consecutivos e é o menor peptídeo capaz de fazer uma volta de hélice completa. Na Figura 4.1, temos a representação do peptídeo IAN em duas dimensões. A representação encontrada na literatura [2, 31] é uma simplificação do sistema, substituindo os grupos metil (-CH₃) pela indicação Me e esquematizou a ligação dupla do oxigênio com o carbono como simples.

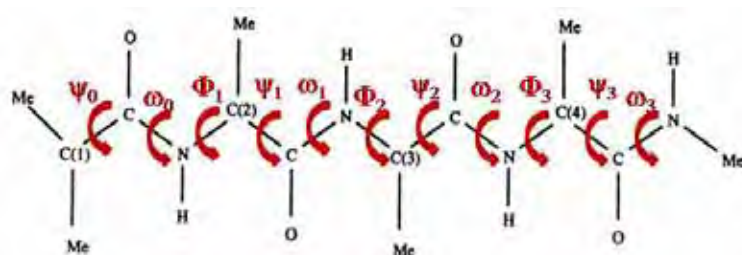


Figura 4.1: *Tetrapeptídeo IAN.*

As setas vermelhas indicam os ângulos diedrais Ψ , ϕ e ω . Na cadeia principal (ou em inglês *backbone*) a ligação C-N está associada ao ângulo diedro ω . Em alguns casos[2, 9, 10, 20, 31], uma aproximação é feita: os ângulos ω 's são fixos, ou seja, as ligações C-N têm caráter de ligação dupla devido a ressonância dos elétrons da ligação dupla C=O, com o átomo de N alcançando uma carga positiva parcial e o átomo de O uma carga negativa parcial. Entretanto, esta aproximação não foi utilizada deixando a ligação C-N livre no MASP com o objetivo de verificar a influência destes ângulos na estrutura da conformação de chegada. Os ângulos diedrais Ψ e ϕ estão relacionados com as rotações das ligações simples entre os átomos da cadeia principal C(i)-C e N-C(i), respectivamente, sendo C(i) o i-ésimo carbono alfa da cadeia polipeptídica. Tridimensionalmente, estes dois ângulos Ψ e ϕ estão ligados a dois arranjos funcionais da cadeia protéica: alfa-hélice ou folha-beta. Para a formação de alfa-hélice os ângulos (Ψ e ϕ) adquirem valores entre -60° a 20° para Ψ e -30° a -120° para ϕ .

E para formação de folha-beta, 120° a 180° para Ψ e -180° a -45° para ϕ . Os ângulos Ψ e ϕ podem ter qualquer valor entre -180° e 180° , entretanto, existem certas configurações de ângulos impossíveis devido ao efeito estérico ocorrido. Os valores permitidos são graficamente demonstrados pelo mapa de Ramachandran[32] na Figura 4.2.

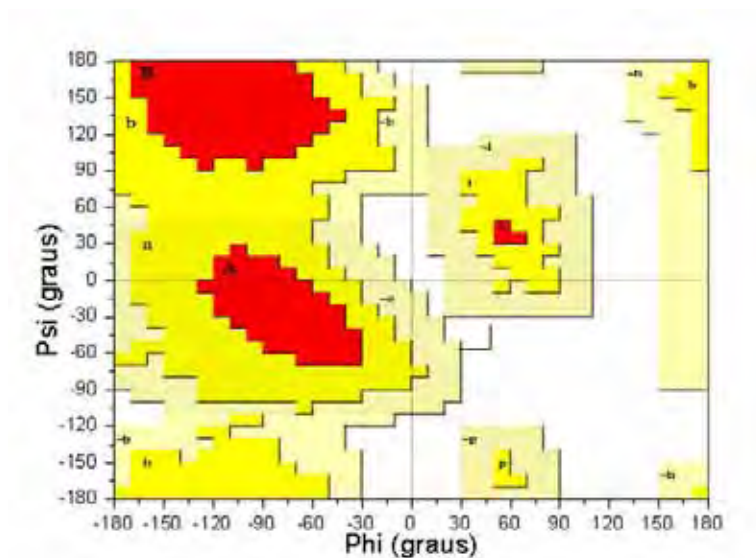


Figura 4.2: Mapa de Ramachandran.

As regiões do Mapa de Ramachandran em branco representam configurações proibidas dos ângulos Ψ e ϕ . As outras cores representam regiões de conformações aceitáveis, em destaque, as regiões em vermelho são consideradas conformações de alfa-hélice (vermelho centro(A) e a direta(L)) e folha-beta (vermelho canto superior (B)).

5 *Procedimento Computacional*

5.1 **Procedimento Padrão – MASP**

O tetrapeptídeo IAN estudado pelo MASP foi construído no Programa Spartan[33]. A estrutura foi otimizada pelo método semi-empírico AM1 no Programa Gaussian98. O procedimento computacional padrão do MASP foi organizado em três passos descritos abaixo:

5.1.1 **Primeira Rotação: Análise Conformacional**

A partir da estrutura otimizada do peptídeo IAN foram construídos os inputs para a análise conformacional de toda a PES. O número de inputs submetidos a este processo obedece a equação 3.2. Neste caso, onze ângulos de rotação livre geraram 55 inputs de todas as combinações de pares de ângulos de diedros da estrutura que foram submetidos ao Gaussian98. A análise conformacional por pares foi feita com passos de 20° , a cada passo a energia da nova conformação gerada é calculada e armazenada utilizando o método semi-empírico AM1.

No MATLAB[34], as energias de cada combinação de pares de ângulos foram organizadas em uma matriz de dados, conforme mostram as Figuras 5.1 e 5.2. A ordem dos valores de energia dispostos na matriz têm por objetivo promover a permutação cíclica dos dados. Por meio da permutação cíclica as energias das combinações de pares de ângulos diedros são dispostas em “camadas” na matriz total. Na primeira camada são dispostas as energias das combinações das rotações do primeiro ângulo estudado com todos os outros. Na segunda camada, são dispostas as energias das combinações do segundo ângulo diedro com todos os ângulos estudados. Successivamente, seguindo este padrão se constrói a matriz total de energia do peptídeo estudado. Este procedimento procura mostrar a influência de cada ângulo diedro sob todos os ângulos estudados pelo MASP. Por meio da permutação cíclica dos dados podemos garantir que nenhuma informação sobre a superfície de energia total é perdida. Na Figura 5.1 temos um exemplo da permutação cíclica de uma matriz na qual três ângulos diedros foram analisados; na Figura 5.2

é apresentado um esquema dos valores de energia dispostos na matriz total. Depois de construída, a matriz de dados é submetida à Análise de Componentes Principais (PCA) no programa Pirouette[35].

$$\begin{bmatrix} [E](1,2) & [E](1,3) \\ [E](2,3) & [E](2,1) \\ [E](3,1) & [E](3,2) \end{bmatrix}$$

Figura 5.1: Representação esquemática da permutação cíclica sobre a matriz contendo os dados de energia. $[E](i, j)$ são matrizes simétricas.

Ângulo		2		3
	Rotação	0 30 ... 330	0 30 ... 330	
1	0 30 . . 330	Valores de Energia	Valores de Energia	
Ângulo		3		1
	Rotação	0 30 ... 330	0 30 ... 330	
2	0 30 . . 330	Valores de Energia	Valores de Energia	
Ângulo		1		2
	Rotação	0 30 ... 330	0 30 ... 330	
3	0 30 . . 330	Valores de Energia	Valores de Energia	

Figura 5.2: Exemplo de matriz com os valores discretos para cada ângulo de rotação.

Conduzindo a PCA na matriz de energia total obtém-se uma distribuição espacial das energias de todos os ângulos estudados em função da primeira e da segunda componente principais. Com base nesta distribuição energética a PCA é conduzida a cada ângulo diedro com o intuito de identificar as regiões de mínima energia. Identificadas as regiões de mínima energia, estas foram submetidas ao refinamento.

5.1.2 Segunda Rotação: Refinamento

Para o refinamento, a construção da região selecionada foi feita estendendo-se um passo de incremento inicial antes e depois do mínimo encontrado. As regiões de mínima ener-

gia foram submetidas a uma segunda Análise Conformacional com passos de 5° na região selecionada. Cada diedro foi submetido ao cálculo da superfície de energia potencial no programa Gaussian98. A cada passo de 5° o programa calcula e armazena a energia obtida pelo método semi-empírico AM1.

Novamente no MATLAB, as matrizes de energia referentes ao refinamento foram construídas para cada ângulo estudado, seguindo os modelos das Figuras 5.1 e 5.2. No Pirouette, cada matriz foi submetida à PCA. Em cada uma das superfícies de energia geradas pela PCA foi identificado o ângulo correspondente ao mínimo de energia para cada diedro estudado.

5.1.3 Otimização Final

Por fim, no último passo da rotina do MASP os ângulos selecionados foram submetidos à otimização no programa Gaussian98 pelo método semi-empírico AM1. A partir desta otimização foram obtidos os valores dos mínimos de energia para cada conformação estudada.

Estes três passos podem ser resumidos no fluxograma da Figura 5.3. .

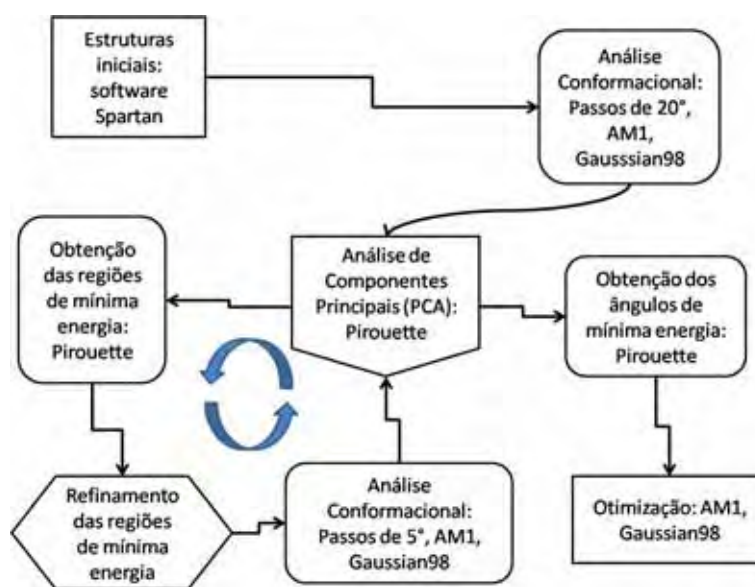


Figura 5.3: Fluxograma do Procedimento Computacional Padrão necessário para o MASP.

Para estudar o limite em que não ocorra perda de informação do método por pares foi feito um crescimento de cadeia para apontar o limite apropriado.

5.2 Estudo de Crescimento de Cadeia

Para a validação do MASP como método que busca todo o espaço conformacional da PES foram feitas a partir da primeira conformação de partida otimizada mais 9 estruturas de partida diferentes as quais foram submetidas ao mesmo procedimento descrito anteriormente. No Spartan, as conformações de partida foram geradas modificando alguns dos ângulos diedros de interesse para a Análise Conformacional. Para comparar e visualizar as estruturas de chegada em formato PDB foi utilizado o programa PyMOL - *DeLano Scientific LLC*[36].

Para o estudo do crescimento de cadeia foram criados, a partir do tetrapeptídeo IAN, fragmentos menores contendo de 4 a 10 ligações com rotação livre ou ângulos diedrais. Para fragmentar o peptídeo foi utilizado o Programa Spartan. A Figura 5.4 mostra os tamanhos de cada fragmento estudado pelo método de sistemática por pares.

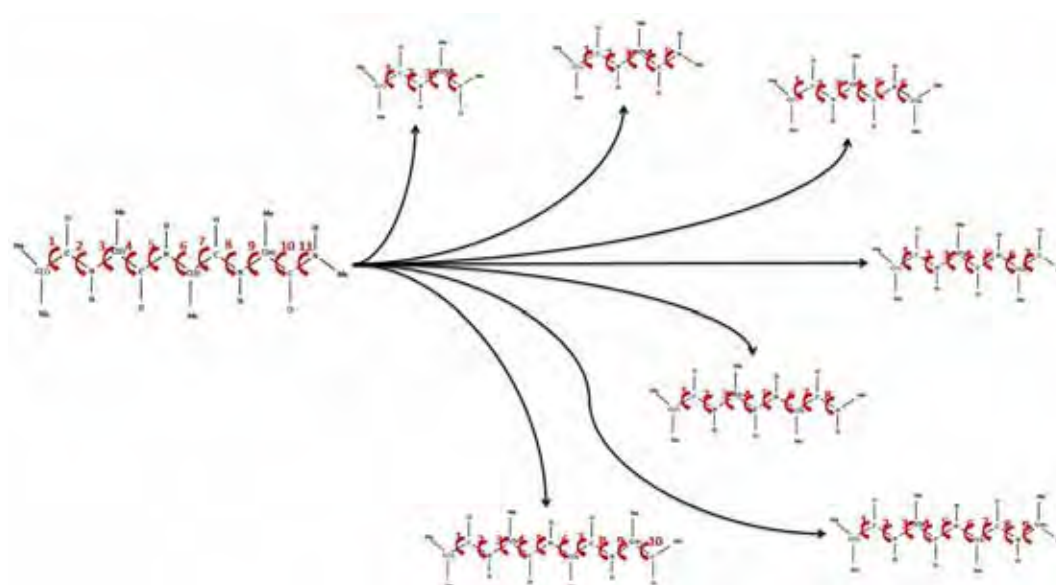


Figura 5.4: *Fragmentação do peptídeo IAN em moléculas com 4 a 10 ligações com rotações livres.*

O Procedimento Computacional Padrão do MASP foi aplicado sobre sete tipos de conformações de partida derivadas da fragmentação do peptídeo IAN. As estruturas ou conformações de partida foram construídas no programa Spartan tomando o cuidado para que fossem diferentes. A partir de algumas conformações de partidas prontas (conformações-semente) foi possível obter mais conformações de partida, modificando os ângulos diedrais aleatoriamente gerando conformações diferentes da configuração-semente. Todas as conformações desta parte foram submetidas ao **Procedimento Padrão** do MASP descrito no fluxograma da

Figura 5.3, com uma diferença apenas na primeira rotação foram utilizados passos de 30°.

5.3 Análise Conformacional Sistemática Completa

O método MASP pode ser comparado com a Análise Conformacional Sistemática Completa. Entretanto, devido ao problema da explosão combinatória só é possível realizar a Análise Completa para um número pequeno de graus de liberdade. No procedimento de Crescimento de Cadeia foi realizado um estudo com 4 ângulos-diedros o qual torna-se viável a Análise convencional sem aproximações.

A Análise Conformacional Sistemática Completa com passos de 30° foi conduzida em um fragmento com 4 ângulos de rotação livre. Entretanto, um fator foi relevante para este sistema: o limite máximo é de apenas 3 ângulos para o procedimento “*scan*” no Gaussian98, que faz o incremento sistemático dos ângulos diedros na conformação de partida varrendo uma parte do espaço conformacional. Deste modo, foi necessário construir 12 conformações de partida ou inputs na qual para a primeira conformação de partida um dado ângulo escolhido era incrementado 30° manualmente, e na segunda conformação de partida foi incrementado com 60°, e para a terceira 90°, e assim, sucessivamente até que na décima segunda fosse incrementado 360°. Este procedimento foi adotado para os 4 ângulos diedros estudados, ou seja, foram feitas 12 conformações diferentes para cada um dos 4 ângulos. Todas as conformações de partida foram submetidas à análise conformacional no programa Gaussian98 pelo método semi-empírico AM1. As energias de cada conformação gerada por esse procedimento obedeceram a equação 3.1, totalizando 20.736 conformações. Devido ao passo de 30° ser grande foi feito um ranqueamento energético que selecionou as conformações com uma diferença de energia potencial de até 3 kcal mol⁻¹ da conformação da menor energia encontrada. Finalmente, as estruturas selecionadas foram otimizadas pelo método semi-empírico AM1. Os resultados são apresentados adiante.

6 Resultados

6.1 MASP: Peptídeo IAN

Inicialmente o peptídeo IAN foi estudado em sua dimensão integral pelo Procedimento Computacional Padrão do MASP. Na primeira etapa do trabalho foram avaliadas dez conformações de partida diferentes, sendo nove delas obtidas a partir de uma conformação-semente. Como observado no Procedimento Computacional, a conformação de partida foi a conformação-semente para que as outras nove conformações de partida fossem feitas. A Tabela 6.1 mostra as energias e os ângulos-diedros das 10 conformações de partida diferentes estudadas pelo MASP. Em negrito temos os ângulos-diedros diferentes para cada conformação-semente. Em destaque temos que a conformação de partida 2 é uma conformação muito próxima a alfa-hélice. Os ângulos-diedros ω , ϕ e Ψ da Tabela 6.1 estão os indicados na representação do peptídeo IAN na Figura 4.1. E para cada conformação estudada pelo MASP foi realizado um cálculo em um único ponto (SP – *Single Point*) para obtermos o valor da energia, em kcal mol^{-1} , de cada estrutura pelo método semi-empírico AM1.

Tabela 6.1: As energias, em kcal mol^{-1} , e os ângulos-diedros das conformações de partida estudadas pelo MASP.

No.	Energia	Ψ_0	ω_0	ϕ_1	Ψ_1	ω_1	ϕ_2	Ψ_2	ω_2	ϕ_3	Ψ_3	ω_3
1	-179.661	79.45	-169.01	-64.73	-44.75	171.78	-84.62	44.47	179.30	-144.22	-59.37	178.07
2	-122.237	-60.55	179.00	-64.73	-64.75	-180.00	-64.62	-65.55	180.00	-64.22	-59.36	178.06
3	-156.024	79.45	170.99	-64.73	-34.75	171.78	-84.62	74.47	179.30	-124.22	-59.37	178.07
4	195.4593	79.45	-169.01	-14.73	-44.75	171.78	-134.62	44.47	179.30	-144.22	-39.37	178.07
5	-80.4794	49.45	-169.01	-64.73	-44.75	151.78	-84.62	44.47	179.30	-144.22	-39.37	178.07
6	-169.241	79.45	-149.01	-64.73	-44.75	171.78	-84.62	44.47	159.30	-144.22	-79.37	178.07
7	-149.108	59.45	-169.01	-84.73	-44.75	-168.22	-84.62	74.47	179.30	-144.22	-59.37	178.07
8	-147.672	79.45	-169.01	-64.73	-24.75	171.78	-104.62	44.47	-160.70	-144.22	-39.37	178.07
9	-29.0516	109.45	-169.01	-64.73	-44.75	171.78	-84.62	24.47	179.30	-174.22	-59.37	178.07
10	-167.759	79.45	-169.01	-44.73	-44.75	-178.22	-84.62	44.47	179.30	-144.22	-59.37	178.07

Nestes estudos com a estrutura completa do IAN, temos que as dez conformações de partida apresentaram um perfil energético tal como apresentado na distribuição observada na Figura 6.1, sendo o Factor1 e o Factor2 as primeira (PC1) e segunda (PC2) Componentes

Principais, respectivamente. Como exemplo da Figura 6.1, as PCAs conduzidas nas matrizes de energia total sobre todos os diedros estudados, indicados na legenda de cores, apresentaram um aglomerado de pontos indicando um mínimo de energia global.

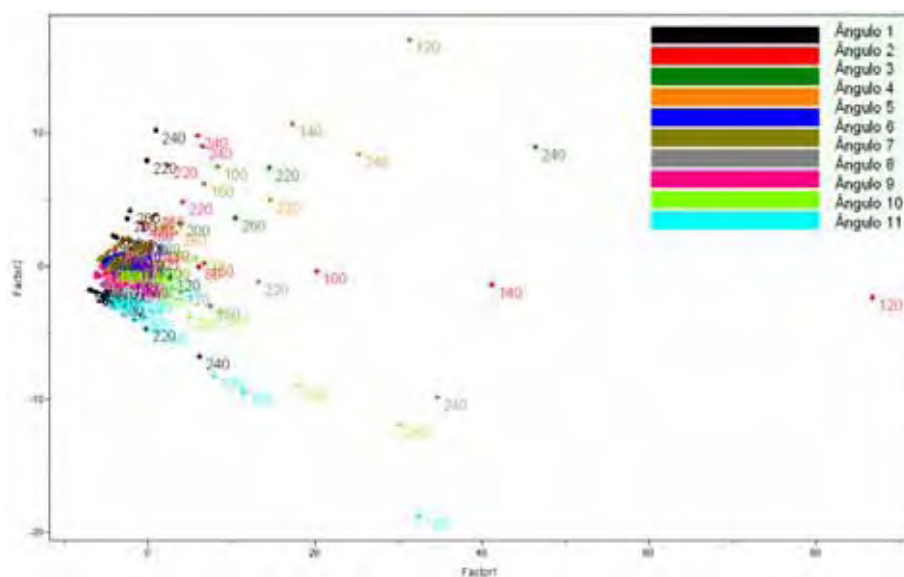


Figura 6.1: Gráfico referente à Análise de Componentes Principais da matriz de energia total de uma conformação de partida do peptídeo IAN.

Cada ângulo diedro estudado da Figura 6.1 foi observado separadamente e foi possível determinar as regiões de mínima energia da PES para o refinamento. Na Figura 6.2, temos o gráfico da PCA de um dos ângulos da conformação de partida do peptídeo IAN em que a região selecionada em torno de 300° está marcada com um círculo vermelho.

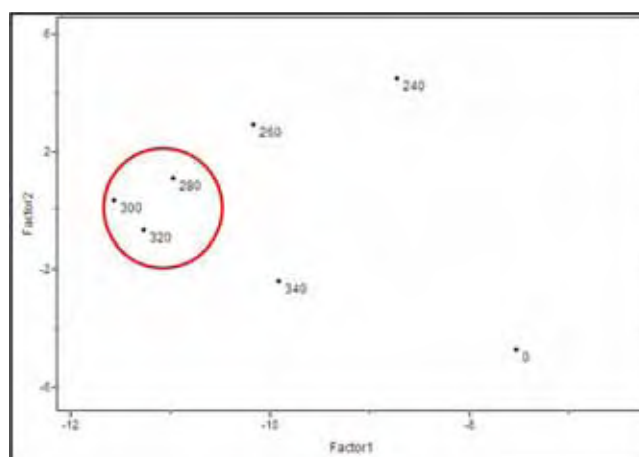


Figura 6.2: Gráfico referente à PCA de um dos diedros estudados do peptídeo IAN.

No refinamento de cada região selecionada com passos de 5° podem ser identificados os ângulos de mínima energia para cada um dos diedros. Na Figura 6.3, temos um exemplo de gráfico da PCA no qual é identificado em vermelho o menor valor para um dado ângulo estudado de uma conformação de partida do peptídeo IAN. Neste exemplo, foi identificado o valor de 30° para o dado diedro estudado na Figura 6.3.

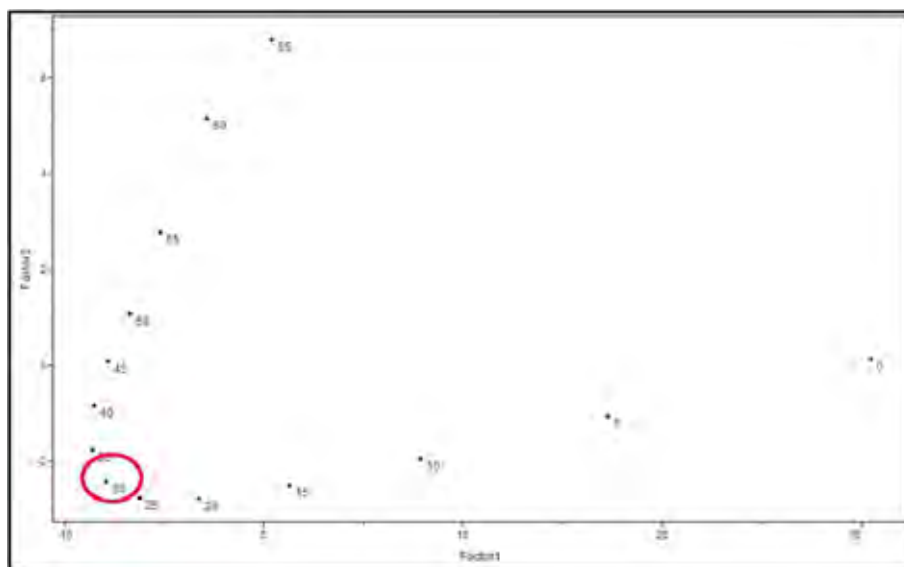


Figura 6.3: Gráfico referente à PCA submetida depois do refinamento para um dos ângulos analisados para uma dada conformação de partida do peptídeo IAN.

Em seguida, como parte de todo o procedimento, cada uma das estruturas estudadas foi otimizada. A Tabela 6.2 mostra as energias e os ângulos-diedros das 10 conformações obtidas pelo MASP. Novamente, os ângulos-diedros ω , ϕ e Ψ da Tabela 6.2 estão os indicados na representação do peptídeo IAN na Figura 4.1.

Tabela 6.2: As energias, em kcal mol^{-1} , e os ângulos-diedros dos mínimos (chegadas) obtidos pelo MASP.

No.	Energia	Ψ_0	ω_0	ϕ_1	Ψ_1	ω_1	ϕ_2	Ψ_2	ω_2	ϕ_3	Ψ_3	ω_3
1	-181.498	70.50	-176.87	-85.57	66.93	-177.14	-85.01	67.39	179.60	-112.24	-46.78	177.92
2	-180.708	-61.83	-172.66	-78.26	25.05	157.24	-90.68	-29.19	177.15	-110.70	-45.10	178.62
3	-179.661	79.45	-168.99	-64.80	-44.71	171.76	-84.61	44.32	179.26	-143.99	-59.33	178.07
4	-179.276	72.93	-174.15	-104.24	-32.54	-179.9	-82.66	70.38	-179.69	-115.57	-51.50	179.42
5	-181.498	70.49	-176.89	-85.56	66.89	-177.17	-84.96	67.52	179.62	-112.34	-46.80	177.93
6	-181.498	70.49	-176.88	-85.57	66.93	-177.15	-85.01	67.40	179.61	-112.26	-46.78	177.92
7	-179.276	72.93	-174.15	-104.24	-32.52	-179.9	-82.65	70.39	-179.69	-115.58	-51.50	179.44
8	-179.276	72.94	-174.14	-104.27	-32.45	-179.89	-82.66	70.40	-179.67	-115.55	-51.48	179.36
9	-182.385	-62.43	-177.31	-84.72	67.46	-177.22	-84.95	67.38	179.58	-112.28	-46.85	177.94
10	-181.498	70.49	-176.89	-85.56	66.93	-177.15	-85.00	67.43	179.62	-112.32	-46.82	177.91

A Tabela 6.2 mostra que foram obtidos os mesmos valores de energia para algumas das

moléculas, indicando que a mesma estrutura foi obtida. Deste modo, é possível separar três grupos de estruturas de chegada. A Figura 6.4 mostra a sobreposição do Grupo 1 de estruturas de chegada 1, 5, 6, 9 e 10, pois apresentam praticamente a mesma estrutura final. A conformação de chegada 9 mostra uma mudança no primeiro diedro Ψ_0 em destaque na Figura 6.4 e pode ser visto na Tabela 6.2 que mostra os valores das energias obtidas e os respectivos ângulos diedros das conformações de chegada estudadas pelo MASP. Estas 5 estruturas apresentam duas pontes de hidrogênio indicadas na Figura 6.4 por um círculo vermelho e com uma formação próxima a folha-beta.

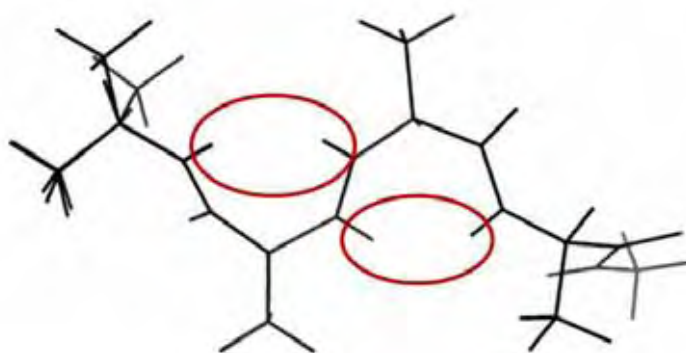


Figura 6.4: Sobreposição das estruturas de chegada 1, 5, 6, 9 e 10 estudadas pelo MASP.

As conformações de chegada 4, 7 e 8, Grupo 2, são sobrepostas e apresentam uma conformação aberta como as estruturas acima. Entretanto, somente uma ponte de hidrogênio é formada, indicada na Figura 6.5 por um círculo vermelho. Logo abaixo, na Figura 6.6, as conformações de chegada 2 e 3, Grupo 3, são sobrepostas, pois apresentam uma estrutura final muito próxima a estrutura secundária de alfa-hélice com duas pontes de hidrogênio indicadas.

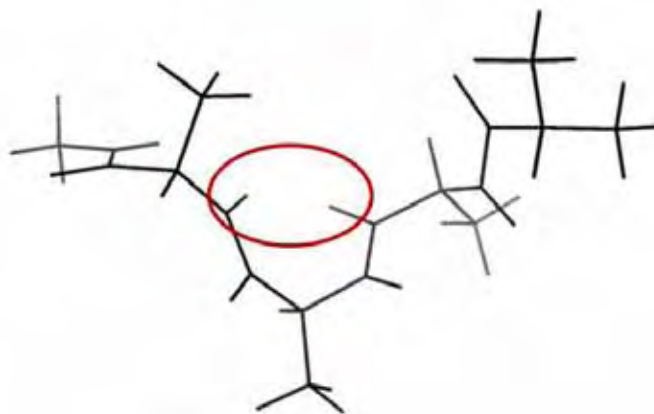


Figura 6.5: Sobreposição das estruturas de chegada 4, 7 e 8 estudadas pelo MASP.



Figura 6.6: Sobreposição das estruturas de chegada 2 e 3 estudadas pelo MASP.

Por meio dos dados estruturais das conformações encontradas por Becker e Karplus[2] as energias foram recalculadas, primeiramente, por meio do cálculo SP e depois otimizadas pelo método semi-empírico AM1 no Gaussian98 para a devida comparação com as energias obtidas pelo método por pares para o peptídeo IAN. As energias encontradas pelos dois métodos são apresentadas na Tabelas 6.3 e 6.4, sendo os ângulos-diedros ω , ϕ e Ψ das Tabelas 6.3 e 6.4 in-

dicados na representação do peptídeo IAN na Figura 4.1. Nas Figuras 6.7 e 6.8 são mostrados a disposição energética dos mínimos encontrados para um cálculo SP e uma otimização no Gaussian98 respectivamente, sendo as estruturas de número #1 a #45 (em preto) as conformações obtidas por Becker e Karplus e as conformações de #50 a #60 (em vermelho) as estudadas pelo MASP.

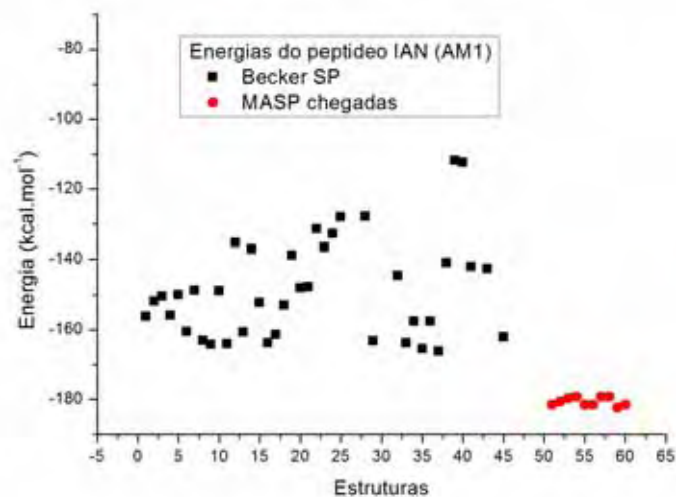


Figura 6.7: Disposição energética obtida para um cálculo SP dos mínimos encontrados por Becker e Karplus[2] (em preto) e pelo MASP (em vermelho).

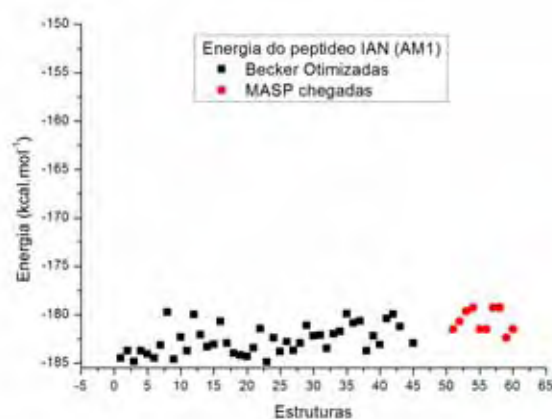


Figura 6.8: Disposição energética dos mínimos otimizados de Becker e Karplus[2] (em preto) e dos mínimos obtidos com o MASP (em vermelho) para o peptídeo IAN.

Tabela 6.3: As energias e os ângulos diedros dos 45 menores mínimos encontrados para o peptídeo IAN no artigo do Becker e do Karplus[2] são agrupados de acordo com suas respectivas bacias. As energias, em kcal mol^{-1} , são dadas relativa ao menor mínimo (#1) da PES.

No.	Energia	Ψ_0	ϕ_1	Ψ_1	ϕ_2	Ψ_2	ϕ_3	Ψ_3
Bacia D [incluindo α -helice(#16)]								
1	0	-60.54	50.97	-71.95	-88.03	-31.32	-76.49	73.28
6	1.021	-58.18	44.91	-83.68	-67.18	-25.82	-94.16	12.62
2	0.109	103.73	48.93	-72.11	-93.29	-28.75	-77.33	71.62
4	0.959	109.94	41.02	-84.71	-66.82	-25.73	-99.05	14.45
8	1.291	125.1	-52.35	-32.95	-70.74	-22.19	-101.86	-32.52
13	1.546	124.7	-48.23	-34.14	-58.25	-20.63	-84.38	-6.84
15	1.748	118	57.84	-62.81	-75.16	70.1	-72.85	72.12
18	1.828	-59.73	58.1	-62.88	-75.21	69.92	-72.92	72.09
16	1.75	-62.53	-53.37	-31.78	-69.52	-22.31	-102.81	-32.63
17	1.776	-62.14	-49.16	-32.84	-58.16	-20.18	-83.54	-7.5
29	-0.526	125.06	-51.69	-22.03	-72.9	-20.39	-77.06	67.36
33	-0.773	-62.36	-52.56	-20.87	-72.29	-20.19	-76.83	67.58
35	-0.958	128.58	-56.15	-48.83	-79.15	45.11	-167.12	-48.84
37	3.211	-62.83	-59.36	-50.19	-79.28	48.31	-167.12	-49.09
Bacia G								
3	0.897	-63.61	-72.79	80.81	64.56	-56.64	-72.91	74.95
5	0.969	126.71	-71.21	81.63	64.92	-55.89	-72.69	74.94
7	1.161	-62	-73.4	78.46	55.03	-69.37	-93.85	-23.99
10	1.36	126.6	-71.42	81.35	56.59	-68.68	-92.31	-24.64
12	1.427	124.4	-56.55	124.51	63.21	-47.31	-69.99	-25.06
23	-0.103	-64.62	-58.34	124.23	63.17	-47.65	-69.69	-24.76
32	-0.72	120.23	-86.48	66.18	62.32	-54.11	-82.86	146.25
38	3.225	-83	-90.72	60.56	60.75	-55	-83.97	151.61
42	3.71	-56.68	-71.83	145.28	51.06	-69	-88.47	-19.79
Bacia H [incluindo folha- β (#11)]								
9	1.344	-61.34	-73.9	72.91	-72.14	71.31	-72.43	72.46
11	1.386	122.05	-73.5	72.56	-72.28	71.27	-72.44	72.46
Bacia C (fora das sub-bacias D, G, H)								
34	-0.957	-61.33	-74.95	70.27	-53.39	-22.61	-77.43	-11.99
36	3.012	122.17	-74.57	69.88	-53.59	-22.5	-77.46	-11.99
45	3.863	-61.33	-74.44	72.67	-68.85	-28.09	-75.21	69.9
Bacia B (fora da sub-bacia C)								
26	-0.414	118.58	58.64	-62.13	57.97	-60.69	-74.56	71.68
27	-0.482	-59.98	58.82	-62.23	57.97	-60.69	-74.56	71.68
30	-0.618	118.5	58.67	-61.25	49.73	-70.3	94.43	-21.56
31	-0.683	-59.95	58.87	-61.33	49.77	-70.3	-94.48	-21.56
Bacia E								
14	1.703	115.31	56.07	-67.34	-79.15	69.12	60.4	-61.14
19	1.873	-57.55	57.25	-66.47	-78.49	70.3	60.97	-60.69
20	1.902	-61.33	-73.74	73.2	-72.41	74.64	61.79	-59.42
21	1.943	122.04	-73.34	72.84	-72.56	74.59	61.78	-59.43
22	1.966	116.76	48.8	-71.88	-90.42	-23.41	59.74	-59.93
24	-0.274	-57.85	50.45	-71.87	-89.03	-24.86	59.67	-59.82
41	3.544	124.84	-52.59	-22.87	-75.29	-15.19	58.86	-61.14
43	3.711	-62.41	-53.49	-21.95	-74.72	-15.55	58.87	-61.14
Bacia F								
25	-0.41	-61.77	-73.74	77.04	61.91	-60.21	59.26	-59.99
28	-0.492	123.43	-72.97	77.29	62.06	-60.12	59.28	-59.99
Bacia I								
39	3.359	118.57	58.71	-62.02	58.19	-61.27	58.96	-60.21
40	3.428	-59.97	58.89	-62.11	58.21	-61.27	58.96	-60.21
Alguns mínimos fora de todas as bacias acima								
44	3.792	123.53	-69.67	70.38	176.43	-40.67	-104.01	-34.3
127	9.33	125.98	-67.91	-20.55	-143.31	144.46	-143.67	147.8
128	11.475	116.45	43.44	34.61	48.28	-9.09	58.76	17.03
137	11.675	-72.68	-143.39	102.6	47.99	53.34	54.53	-74.75

Tabela 6.4: *Energia e ângulos diedros das conformações dos mínimos encontrados por Becker e Karplus[2] depois da otimização no método semi-empírico AM1 no Gaussian98. A energia está em kcal mol⁻¹.*

No.	Energia	Ψ_0	ω_0	ϕ_1	Ψ_1	ω_1	ϕ_2	Ψ_2	ω_2	ϕ_3	Ψ_3	ω_3
Bacia D [incluindo α -helice(#16)]												
1	-184.49	-61.82	174.56	70.15	-79.66	171.05	-95.64	-28.83	179.36	-81.2	75.31	-178.74
6	-184.49	-61.81	174.56	70.15	-79.66	171.05	-95.64	-28.85	179.36	-81.19	75.31	-178.75
2	-183.74	70.46	174.48	69.88	-80.02	172.08	-97.45	-28.99	-179.76	-81.89	74.55	-179.03
4	-183.74	70.45	174.47	69.87	-80.05	172.07	-97.44	-28.97	-179.78	-81.88	74.56	-179.04
8	-179.768	70.9	-171.99	-79.05	25.4	157.2	-90.66	-29.26	177.11	-110.59	-44.83	178.52
13	-182.063	70.71	-175.99	-85.8	70.25	-179.47	-105.16	-40.42	-179.65	-82.87	67.8	179.47
15	-183.094	72.31	178.71	77.08	-62.58	-176.11	-84.67	65.51	-179.42	-84.22	65.17	178.43
18	-183.991	-61.16	178.17	77.47	-62.24	-176.08	-84.65	65.44	-179.38	-84.25	65.15	178.43
16	-180.708	-61.83	-172.66	-78.25	25.02	157.24	-90.66	-29.22	177.16	-110.68	-45.08	178.62
17	-182.969	-62.2	-176.5	-84.86	70.81	-179.57	-105.18	-40.67	-179.63	-82.88	67.81	179.45
29	-181.116	71.39	-170.45	-80.96	31.36	159.54	-92.22	-22.48	-178.87	-84.12	66.06	179.29
33	-181.997	-61.39	-170.93	-80.07	30.7	159.29	-91.92	-22.27	-178.84	-84.14	66.02	179.28
35	-179.904	163.85	-177.05	-76.46	-46.75	166.82	-80.46	63.77	-175.05	-167.12	-59.44	-178.23
37	-180.651	-68.17	-176.64	-78.12	-47.89	166.22	-80.27	64	-174.56	-166.52	-59.64	-178.05
Bacia G												
3	-184.865	-61.23	-176.8	-85.14	69.77	177.56	77.74	-59.83	-177.76	-83.31	71.05	179.56
5	-184.092	158.86	-177.76	-85.69	67.09	178.66	76.86	-62.53	-178.17	-83.43	70.95	-179.29
7	-183.16	-63.79	-178.95	-85.21	65.47	-175.99	68.04	-77.9	166.29	-98.82	-38.3	179.79
10	-182.325	166.08	-179.21	-84.89	65.83	-175.95	68.08	-77.86	166.17	-98.8	-38.39	-179.98
12	-179.994	136.69	174.3	-81.74	152.96	-175.88	76.46	-55.76	-174.81	-110.91	-11.1	175.57
23	-184.925	-51.17	-177.76	-80.99	80.98	-177.78	77.29	-58.26	174.96	-78.38	78.38	-178.62
32	-183.494	71.64	176.78	-84.21	69.66	-166.14	74.05	-60.08	166.62	-92.2	155.7	-179.46
38	-183.736	-74.93	-177	-88.42	61.35	-165.97	72.58	-63.29	165.17	-90.84	155.9	-177.25
42	-179.97	-67.78	173.02	-100.85	166.87	176.34	74.81	-70.93	172.46	-99.55	-34.24	176.49
Bacia H [incluindo folha- β (#11)]												
9	-184.604	-62.4	-177.42	-84.52	67.18	-178.34	-84.37	64.28	-178.92	-84.41	65.63	178.29
11	-183.741	166.68	-177.81	-84.17	67.43	-178.39	-84.34	64.32	-178.92	-84.4	65.63	178.29
Bacia C (fora das sub-bacias D, G, H)												
34	-181.756	-62.28	-176.67	-84.91	67.08	-172.96	-75.95	21.15	163.28	-95.05	-17.6	177.19
36	-180.889	166.93	-177.05	-84.56	67.37	-173	-76	21.36	163.2	-95.04	-17.73	177.22
45	-182.969	-62.19	-176.5	-84.86	70.8	-179.58	-105.17	-40.67	-179.63	-82.88	67.83	179.45
Bacia B (fora da sub-bacia C)												
26	-182.807	71.97	178.1	76.92	-63.79	179.69	77.03	-61.48	-177.79	-84.22	67.06	178.39
27	-183.718	-61.85	177.6	77.24	-63.65	179.63	77.1	-61.47	-177.8	-84.22	67.12	178.44
30	-182.2	72.03	178.54	76.77	-64.17	178.62	77.01	-62.07	179.37	76.81	-61.66	-178.09
31	-182.121	-62.01	177.09	77.63	-62.6	179.74	70.07	-76.58	168.89	-99.51	-32.76	178.67
Bacia E												
14	-183.322	83.09	178.85	77.8	-60.64	-177.87	-84.56	68.78	179.6	75.77	-66.25	179.27
19	-184.21	-62.08	177.78	77.12	-63.71	-177.15	-85.47	65.51	179.75	75.43	-66.23	-179.68
20	-184.344	-62.37	-177.17	-84.43	68.1	-179.25	-84.57	68.11	179.27	76.45	-62.86	-178.67
21	-183.476	166.74	-177.57	-84.05	68.38	-179.27	-84.54	68.17	179.26	76.44	-62.8	-178.63
22	-181.436	139.61	178.21	69.14	-79.69	169.61	-97.35	-31.58	177.95	78.38	-62.38	-178.44
24	-182.402	-54.63	179.34	69.74	-78.63	168.54	-94.65	-30.06	177.55	78.63	-61.54	-178.16
41	-180.4	71.55	-170.7	-77.9	23.36	161.28	-92.44	-20.08	177.4	78.59	-63.01	-178.08
43	-181.259	-61.71	-171.32	-77.28	23.52	161.1	-92.21	-20.86	177.38	78.59	-62.89	-178.05
Bacia F												
25	-183.827	-62.7	-177.33	-85.5	68.29	176.94	77.22	-62.55	179.77	76.74	-61.26	-178.25
28	-182.966	166.38	-177.64	-85.2	68.36	176.78	77.24	-62.74	179.94	76.65	-61.25	-178.2
Bacia I												
39	-182.2	72.05	178.53	76.77	-64.15	178.62	77.02	-62.06	179.37	76.81	-61.64	-178.08
40	-183.105	-61.89	178.04	77.08	-64.01	178.52	77.11	-62.02	179.37	76.82	-61.67	-178.11

Todos os mínimos, indicados no gráfico da Figura 6.8, dentro do intervalo energético entre -179.27 a -182.97 kcal mol $^{-1}$ foram sobrepostos sobre cada um dos três grupos de estruturas de chegada, nas Figuras 6.4, 6.5 e 6.6, obtidas pelo MASP. A sobreposição destas estruturas sobre o Grupo 1 de estruturas (Figura 6.4) pode ser visto na Figura 6.9.

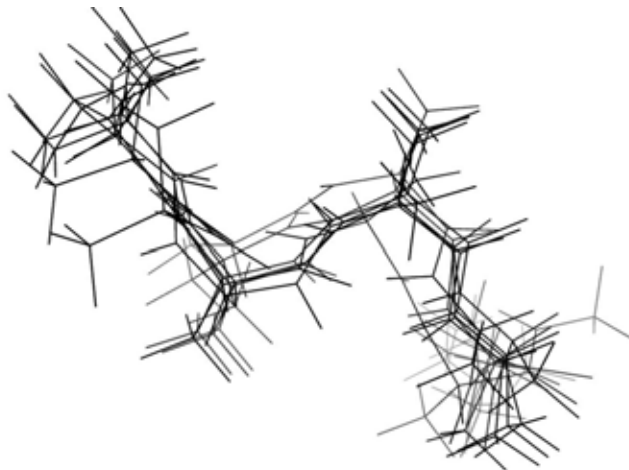


Figura 6.9: *Sobreposição dos mínimos encontrados pelo Becker e Karplus sobre Grupo 1.*

As sobreposições dos outros mínimos de energia sobre os Grupo 2 e 3 pode ser visto nas Figuras 6.11 e 6.10, respectivamente.



Figura 6.10: *Sobreposição dos mínimos encontrados pelo Becker e Karplus sobre Grupo 2.*

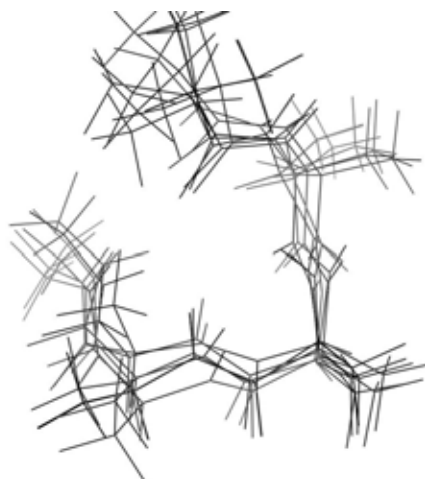


Figura 6.11: Sobreposição dos mínimos encontrados pelo Becker e Karplus sobre Grupo 3.

Para uma simples comparação foram realizadas otimizações semi-empíricas de todas as conformações de partida do IAN estudadas somente pelo MASP. O gráfico da Figura 6.12 mostra a discrepância energética entre as energias das 10 conformações de partida otimizada (em preto) versus as energias das conformações de chegada obtidas com o MASP (em vermelho). As 10 conformações estudadas pelo MASP estão indicadas no gráfico da Figura 6.12.

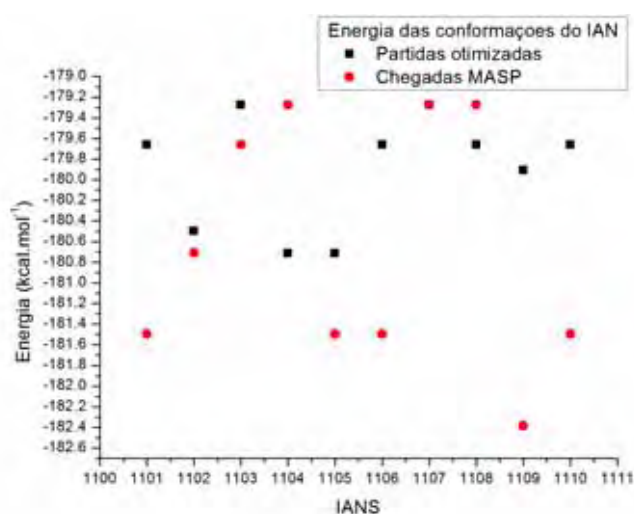


Figura 6.12: Disposição energética das conformações de partida otimizadas (em preto) e dos mínimos encontrados com o MASP (em vermelho) para o peptídeo IAN.

6.2 MASP: Crescimento de Cadeia

Como indicado no Procedimento Padrão o peptídeo IAN foi cortado em pequenos fragmentos para o estudo do Crescimento de Cadeia. Em todo o trabalho foram avaliadas 107 conformações de partida de diferentes tamanhos com o método de procura sistemática por pares. A Tabela 6.5 mostra o número de conformações de partida estudadas para cada fragmento.

Tabela 6.5: *O Número de conformações de partida estudadas para cada fragmento do peptídeo IAN.*

Diedros	Conformações de Partida
4	14
5	16
6	19
7	13
8	20
9	15
10	10
13	1

Os valores dos diedros e as energias das conformações de partida dos fragmentos com tamanho de 4 a 10, e 13 diedros estão expostos nas Tabelas A.1 a A.8 no Apêndice deste trabalho.

Os valores dos mínimos de energia encontrados para o peptídeo IAN são mostrados na Tabela 6.1. Os valores dos mínimos de energia e os ângulos diedros dos fragmentos de 4 a 10 e 13 diedros utilizando o MASP estão nas Tabelas A.9 a A.16 do Apêndice. A estrutura com 13 diedros foi construída para estudar o MASP quando aplicado a uma conformação de partida maior que o peptídeo IAN. O comportamento dos valores dos mínimos de energia encontrados das 116 conformações de partida estudadas neste trabalho pode ser visto na Figura 6.13. Cada ponto representa um mínimo de energia encontrado para uma dada conformação de partida. As cores representam os oito tamanhos diferentes das moléculas estudadas, onde a associação é feita no índice da Figura 6.13, que relaciona a cor ao número de ligações com rotações livres ou ângulos diedrais.



Figura 6.13: Disposição dos valores dos mínimos de energia encontrados agrupados de acordo com os tamanhos dos fragmentos do peptídeo e dele próprio.

Czerminski et. al. [9] indicam uma classificação na qual os mínimos de energia são agrupados dentro de uma diferença de 4 kcal mol^{-1} da conformação de mais baixa energia. Esse valor é da ordem de $10 K_B T$, sendo $T=298 \text{ K}$. Neste trabalho seguimos esse critério para seleccionar energeticamente as estruturas de interesse. Os valores dos mínimos de energia para cada estrutura estudada que respeitam esta diferença energética estão dispostos na Figura 6.14. Novamente, na Figura 6.14 é indicada por uma seta a média dos valores dos mínimos apresentados.

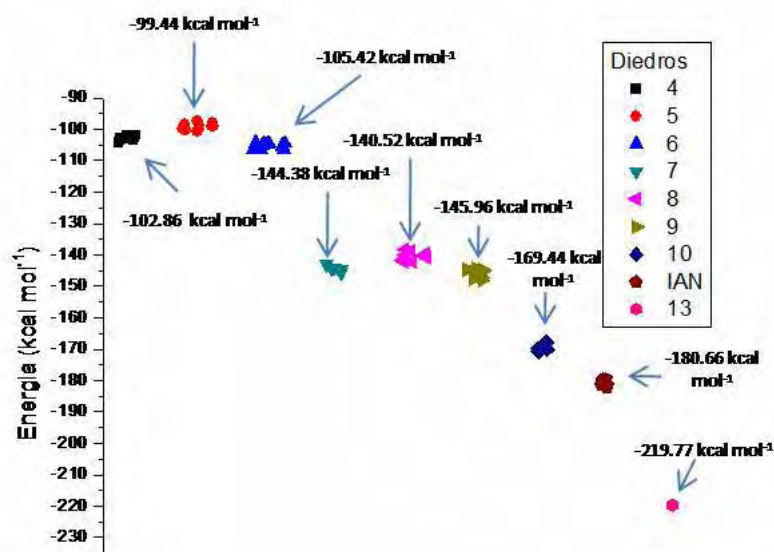


Figura 6.14: Disposição dos valores dos mínimos de energia que se encontram a uma diferença energética de 4 kcal mol^{-1} da conformação de mais baixa energia.

O número de conformações de chegada que obedece à diferença energética se reduz a 89 conformações, cuja distribuição para os oito tipos de estrutura (sete fragmentos mais a estrutura completa do IAN) é mostrada na Tabela 6.6.

Tabela 6.6: O número de conformações de chegada que estão dentro da diferença de 4 kcal mol^{-1} da conformação de mais baixa energia segundo o tamanho da estrutura.

Diedros	Conformações de Chegada
4	11
5	13
6	15
7	8
8	10
9	12
10	9
IAN	10
13	1

Na segunda coluna da Tabela 6.7 estão os valores de menor mínimo de energia para cada um dos oito tipos de estruturas estudados; na coluna 3 encontram-se as médias de todos os

valores dos mínimos de energia que respeitam a diferença de 4 kcal mol^{-1} do valor do mínimo de mais baixa energia, sendo que da segunda e da terceira coluna estão em kcal mol^{-1} .

Tabela 6.7: O valor de mais baixa energia e a média dos valores dos mínimos de energia encontrados para os oito tipos de estruturas/ kcal mol^{-1} .

Tamanho	Mínimo de Energia	Média
4	-104.27	-102.86
5	-100.83	-99.438
6	-106.67	-105.42
7	-145.52	-144.38
8	-142.32	-140.52
9	-147.99	-145.96
10	-171.14	-169.44
IAN	-182.38	-180.66

Um procedimento muito simples e parecido com o da seção anterior foi feito para os fragmentos do IAN, no qual todas as conformações de partida foram otimizadas pelo método semi-empírico AM1 e podem ser comparadas com as energias das estruturas de chegada. Como exemplo, a Figura 6.15 mostra um gráfico que mostra a discrepância das energias das conformações de partida com 7 diedros otimizadas (em preto) versus as de chegada obtidas pelo MASP (em vermelho).

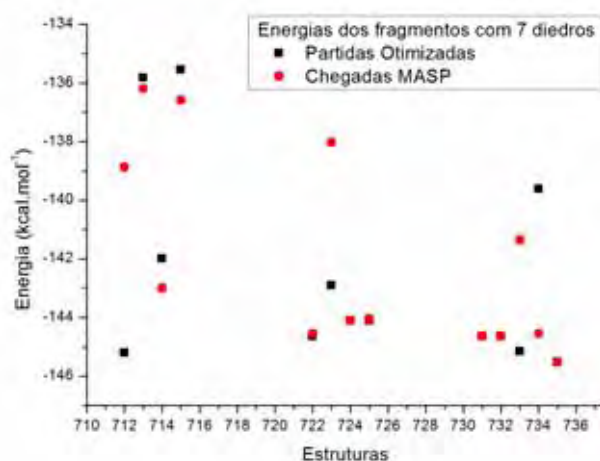


Figura 6.15: Disposição energética das conformações de partida otimizadas (em preto) e dos mínimos encontrados com o MASP (em vermelho) para o fragmento com 7 diedros.

6.3 Análise Conformacional Sistemática Completa

A Análise Conformacional Sistemática Completa foi conduzida a fragmentos do peptídeo IAN com 4 diedros na cadeia principal devido a explosão combinatória, já discutida anteriormente. A análise completa foi feita sob uma das estruturas estudadas pelo método de análise sistemática reduzida por pares com o objetivo de comparar os resultados encontrados.

Para esta estrutura a análise completa foi conduzida com passos de 30 graus para cada ângulo diedro estudado. Construindo e selecionando na superfície de energia potencial as estruturas com uma diferença de até 3 kcal mol⁻¹ da estrutura de menor energia encontrada. As estruturas selecionadas foram otimizadas no Gaussian98 no método semi-empírico AM1. A Figura 6.16 mostra o comportamento energético de cada estrutura otimizada, sendo D1, D12, D18 e D20 os ângulos-diedros incrementados manualmente conforme descrito no Procedimento Computacional, e compara com as energias das conformações de chegada utilizando o método de análise sistemática reduzida por pares (em lilás).

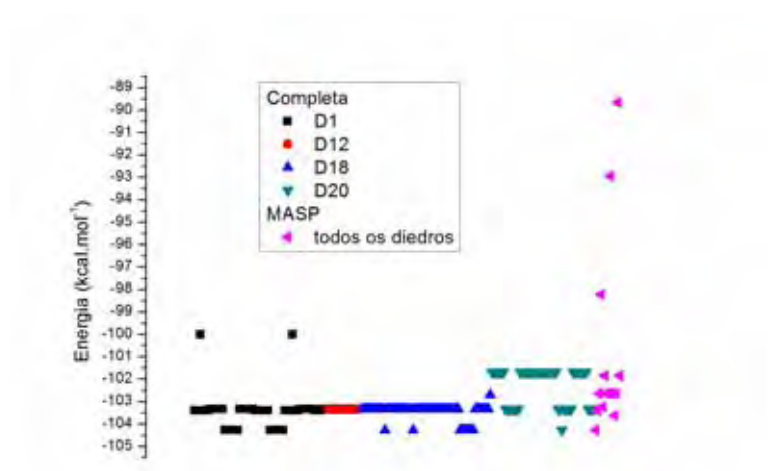


Figura 6.16: Comportamento energético dos fragmentos de 4 diedros para análise completa e reduzida por pares.

7 *Conclusões e Discussão*

Para o peptídeo IAN, o MASP estudou 10 conformações de partida resultando em 3 tipos de conformações diferentes, sendo dois grupos de cadeia estendida, com uma ou duas pontes de hidrogênio, e um grupo de cadeia semelhante à hélice, com duas pontes de hidrogênio, vistos nas Figuras 6.4, 6.5 e 6.6, respectivamente. As conformações de cadeia estendida com duas pontes são semelhantes a folha-beta ideal, que apresenta 3 pontes de hidrogênio. E podemos afirmar que, nos grupos de cadeia estendida as pontes de hidrogênio diminuíram a energia potencial da molécula estudada. No grupo de cadeias semelhantes à hélice, os ângulos-diedros ϕ e Ψ estão próximos da região vermelha, indicada por A, do gráfico de Ramachandran na Figura 4.2. Segundo a Tabela 6.2, as energias das conformações 1102 e 1103 estão próximas, determinando algumas pequenas diferenças estruturais, mas ambas ainda apresentam duas pontes de hidrogênio sob a mesma carbonila indicada na Figura 6.6. As conformações de chegada, da Tabela 6.2, mostraram que o ângulo diedro ω deve ficar em torno de 180° .

Comparando com os resultados de Becker O.M. e Karplus M.[2], que estudaram anteriormente a estrutura alvo deste trabalho, o peptídeo IAN, são encontradas 45 conformações de mínimo da PES.

Em primeira análise, os resultados apresentados, neste trabalho para o MASP, alcançaram energias muito menores do que o artigo citado[2]. O método de sistemática por pares alcança êxito para determinar mínimos antes desconhecidos da superfície de energia potencial quando comparados com o cálculo SP dos mínimos de Becker e Karplus.

Entretanto, sob uma devida otimização pelo método semi-empírico AM1 mostrou-se que os mínimos obtidos não são os menores mínimos de energia da PES, mas estão dentro do erro esperado do método. Mas mesmo assim, as sobreposições dos mínimos obtidos pelo Becker sobre os Grupos 1, 2 e 3, nas Figuras 6.9, 6.11 e 6.10, mostraram que o MASP reproduziu grande parte da PES.

Na fragmentação do IAN, os estudos feitos com o MASP indicaram que conforme

aumenta-se o tamanho do fragmento estudado diminui-se o valor da energia dos mínimos obtidos. Essa observação está de acordo com o esperado para o comportamento do tetrapeptídeo IAN, pois este apresenta a possibilidade de uma, duas ou até três pontes de hidrogênio que diminuem a energia potencial desta conformação. Como observado na Figura 6.14, a média dos valores dos mínimos de energia encontrados para o peptídeo IAN sem que este esteja cortado em fragmentos é de $-180,66 \text{ kcal mol}^{-1}$, a menor média encontrada entre todas as estruturas analisadas, exceto para a conformação com 13 diedros.

O método de procura sistemática por pares mostrou resultados coerentes com o esperado, pois uma grande parte os valores dos mínimos de energia encontrados estão dentro do alcance estipulado pela literatura, de até 4 kcal mol^{-1} da conformação de chegada de menor energia[9]. Além disso, a média dos valores dos mínimos de energia referentes a cada tipo de estrutura estudada diminuiu com o aumento do tamanho da molécula, indicando que o método mostra-se apropriado para estudar a superfície de energia potencial.

De maneira geral observa-se que o comportamento energético é singular para as moléculas de tamanhos distintos e os valores dos mínimos de energia encontrados estão concentrados ao redor de uma média, conforme visto na Figura 6.14.

No artigo de Bruni et. al.[1], foi utilizado o MASP em um sistema com três ângulos diedros, e depois foi realizada a Análise Completa para o mesmo sistema. Em ambos procedimentos foram obtidas as mesmas conformações de chegada. Neste trabalho, o comportamento energético da Análise Conformacional Completa dos fragmentos com 4 diedros, visto na Figura 6.16, mostrou-se igual ao do MASP.

Para determinar um limite apropriado do número dos graus de liberdade sob o qual o MASP explora toda a PES foi feita a comparação novamente entre as energias das conformações de partida otimizadas e as conformações de chegada para cada grupo de fragmento. Isto mostrou que para os fragmentos com 7 diedros algumas conformações de partida otimizadas demonstraram energias muito mais baixas das que as obtidas pelo MASP. Pois, na Figura 6.15, a disposição energética das partidas otimizadas *versus* as energias de chegada mostraram que as conformações de partida otimizadas 712, 723 e 733 têm energias menores do que as energias de chegada quando submetidas ao MASP.

Por meio desta análise poderíamos apontar um limite para o MASP de 6 ângulos diedros consecutivos na cadeia principal, pois segundo as energias das partidas otimizadas *versus* as de chegada do MASP não temos uma discrepância muito grande.

Portanto, mostramos que o MASP é apropriado para o estudo da PES dentro do limite

proposto de 6 ângulos de diedros.

Referências Bibliográficas

- [1] BRUNI, A.T.; LEITE, V.B.; FERREIRA, M.M.C. Conformational analysis: A new approach by means of chemometrics. **Journal of Computational Chemistry**, v. 23, n. 2, p. 222-236, jan. 2002.
- [2] BECKER, O.M.; KARPLUS, M. The topology of multidimensional potential energy surfaces: Theory and application to peptide structure and kinetics. **Journal of Chemical Physics**, v. 106, n. 4, p. 1495-1517, jan. 1997.
- [3] GASTEIGER, J; SADOWSKI, J; SCHUUR, J, et al. Chemical information in 3D space. **Journal of Chemical Information and Computer Sciences**, v. 36, n. 5, p. 1030-1037, out. 1996.
- [4] BURGI, H.B. Structure correlation and chemistry. **Acta Crystallographica Section A**, v. 54, n. 1, p. 873-885, nov. 1998.
- [5] FANDRICH, M.; DOBSON, C.M. The behaviour of polyamino acids reveals an inverse side chain effect in amyloid structure formation. **EMBO Journal**, v. 21, n. 21, p. 5682-5690, nov. 2002.
- [6] LEACH, A.R. **Molecular Modelling**, England: Addison-Wesley Longman Ltd., 1996.
- [7] JENSEN, F., **Introduction to Computational Chemistry**, New York: John Wiley & Sons, 1999.
- [8] BECKER, O.M. Principal coordinate maps of molecular potential energy surfaces. **Journal of Computational Chemistry**, v. 19, n. 11, p. 1255-1267, ago. 1998.
- [9] CZERMINSKI, R.; ELBER, R. Reaction path study of conformational transitions and helix formation in a tetrapeptide. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 86, p. 6963-6967, set. 1989.
- [10] BROOKS, B. R.; BRUCCOLERI, R. E.; OLAFSON, B. D.; STATES, D. J.; SWAMINATHAN, S.; KARPLUS, M. CHARMM - A Program for Macromolecular Energy, Minimization, and Dynamics Calculations. **Journal of Computational Chemistry**, v. 4, p. 187-217, 1983.
- [11] DERKS, E.P.P.A.; BECKERS, M.L.M.; MELSSSEN, W.J., et al. Parallel processing of chemical information in a local area network .2. A parallel cross-validation procedure for artificial neural networks. **Computers & Chemistry**, v. 20, n. 4, p. 439-448, 1996.

- [12] JORDAN, S.N.; LEACH, A.R.; BRADSHAW, J. The application of neural networks in conformational-analysis .1. prediction of minimum and maximum interatomic distances. **Journal of Chemical Information and Computer Sciences**, v. 35, n. 3, p. 640-650, maio 1995.
- [13] BECKERS, M.L.M.; DERKS, E.P.P.A.; MELSSEN, W.J., et al. Parallel processing of chemical information in a local area network .3. Using genetic algorithms for conformational analysis of biomacromolecules. **Computers & Chemistry**, v. 20, n.4, p. 449-457, 1996.
- [14] LUCASIU, C.B.; KATEMAN, G. Understanding and using genetic algorithms .2. representation, configuration and hybridization. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 25, n. 2, p. 99-145, nov. 1994.
- [15] JORGENSEN, W.L.; TIRADO-RIVES, J. Monte Carlo vs molecular dynamics for conformational sampling. **Journal of Physical Chemistry**, v. 100, n. 34, p. 14508-14513, ago. 1996.
- [16] ALLEN, M. P.; TILDESLEY, D. J. **Computer Simulation of Liquids**, Oxford: Clarendon Press, 1989.
- [17] LEACH, A.R.; SMELLIE, A.S. A combined model-building and distance geometry approach to automated conformational-analysis and search. **Journal of Chemical Information and Computer Sciences**, v. 32, n. 4, p. 379-385, jul. 1992.
- [18] NAIDOO, K.J.; BRADY, J.W. The application of simulated annealing to the conformational analysis of disaccharides. **Chemical Physics**, v. 224, n. 2-3, p. 263-273, dez. 1997.
- [19] VILLANI, V. Methodological procedures of Molecular Dynamics Simulated Annealing for the chain folding of the flexible tetrapeptide Boc-Gly-Leu-Gly-Gly-NMe with analysis of the evolution mechanism. **Journal of Molecular Structure: THEOCHEM**, v. 363, n. 1, p. 43-66, mar. 1996.
- [20] BEUSEN, D.D.; SHANDS, E. F. B.; KARASEK, S.F., MARSHALL, G. R.; DAMM-KOEHLER, R.A. Systematic search in conformational analysis. **Journal of Molecular Structure: THEOCHEM**, v. 370, n. 2-3, p. 157-171, out 1996.
- [21] LAVINE, B.; WORKMAN, J.J. Chemometrics. **Analytical Chemistry**, v. 76, n. 12, p. 3365-3371, jun. 2004.
- [22] DEWAR, M.J.S.; ZOEBISCH, E.G.; HEALY, E.F., et al. The development and use of quantum-mechanical molecular-models .76. am1 - a new general-purpose quantum-mechanical molecular-model. **Journal of the American Chemical Society**, v. 107, n. 13, p. 3902-3909, 1985.
- [23] KONSTANTINOVA, E. Trabalho de Tese de Doutorado.C.B.P.F. **Novas fases do carbono: Abordagem computacional**. Rio de Janeiro, 2005.

- [24] SZABO, A.; OSTLUND, N.S. **Modern Quantum Chemistry: Introduction to Structure Theory**. New York: Dover, 1996.
- [25] ATKINS, P.W. **Físico-Química**, 7 ed. Rio de Janeiro: LTC, 2003.
- [26] DEWAR, M.J.S.; THIEL, W. Ground-states of molecules .38. mndo method - approximations and parameters. **Journal of the American Chemical Society**, v. 99, n. 15, p. 4899-4907, 1977.
- [27] M. J. FRISCH, G. W. TRUCKS, H. B. SCHLEGEL, G. E. SCUSERIA, M. A. ROBB, J. R. CHEESEMAN, V. G. ZAKRZEWSKI, J. A. MONTGOMERY JR., R. E. STRATMANN, J. C. BURANT, S. DAPPRICH, J. M. MILLAM, A. D. DANIELS, K. N. KUDIN, M. C. STRAIN, A. FARKAS, J. TOMASI, V. BARONE, M. COSSI, R. CAMMI, B. MENNUCCI, C. POMELLI, C. ADAMO, S. CLIFFORD, J. OCHTERSKI, G. A. PETERS-SON, P. Y. AYALA, Q. CUI, K. MOROKUMA, P. SALVADOR, J. J. DANNENBERG, D. K. MALICK, A. D. RABUCK, K. RAGHAVACHARI, J. B. FORESMAN, J. CIOŚ-LOWSKI, J. V. ORTIZ, A. G. BABOUL, B. B. STEFANOV, G. LIU, A. LIASHENKO, P. PISKORZ, I. KOMÁROMI, R. GOMPERTS, R. L. MARTIN, D. J. FOX, T. KEITH, M. A. AL-LAHAM, C. Y. PENG, A. NANAYAKKARA, M. CHALLACOMBE, P. M. W. GILL, B. JOHNSON, W. CHEN, M. W. WONG, J. L. ANDRES, C. GONZALEZ, M. HEAD-GORDON, E. S. REPLOGLE, AND J. A. POPLE, **Gaussian 98** (Gaussian, Inc., Pittsburgh, PA, 1998).
- [28] WOLD, S.; ESBENSEN, K.; GELADI, P. Principal component analysis. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 2, n. 1-3, p. 37-52, ago. 1987.
- [29] BEEBE, K.R.; PELL, R. J.; SEASHOLTZ, M. B. **Chemometrics: A Practical Guide**, New York: John Wiley & Sons, 1998.
- [30] GOLUB, G. H.; VAN LOAN, C. F. **Matrix Computations**, London: The Johns Hopkins University Press, 1989.
- [31] SANTAGATA, L. N.; SUVIRE, F. D.; ENRIZ, R. D.; TORDAY, L. L.; CSIZMADIA, I. G. A geometrical algorithm to search the conformational space (GASCOS) of flexible molecules. **Journal of Molecular Structure (THEOCHEM)**, n. 465, p. 33-37, 1999.
- [32] RAMACHANDRAN, G. N.; SASISEKHARAN, V. Conformation of polypeptides and proteins. **Advances in Protein Chemistry**, v. 23, p. 238, 1968.
- [33] **SPARTAN**. Wavefunction, Inc., 18401 Von Karman Avenue, Suite 370, Irvine, CA 92612 USA.
- [34] MATLAB 2008b, MathWorks Inc. 2008.
- [35] **Piroutte** v. 3.11, Infometrix, Inc., P.O. Box 1528, Woodinville, WA 98072-1528
- [36] DeLano, W.L. The PyMOL Molecular Graphics System (2002) DeLano Scientific, Palo Alto, CA, USA.

- [37] CHANG, C.; GILSON, M. K. Tork: Conformational analysis method for molecules and complexes. **Journal of Computatinonal Chemistry**. v. 24, p. 1987, 2003.
- [38] SMELLIE, A.; STANTON, R.; HENNE, R.; TEIG, S. Conformational analysis by intersection: CONAN. **Journal of Computatinonal Chemistry**, v. 24, p. 10, 2003.
- [39] GLICK, M.; RAYAN, A.; GOLDBLUM, A. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 99, p. 703, 2002.

APÊNDICE A – Apêndice

Nas Tabelas abaixo seguem os valores das energias e dos ângulos-diedros de partida e de chegada dos fragmentos do peptídeo IAN avaliados no Procedimento Computacional do MASP. Os valores de energia estão todos em unidades de kcal mol^{-1} . Os ângulos-diedros ω , ϕ e Ψ das Tabelas abaixo estão os indicados em cada um dos fragmentos da Figura 5.4.

Tabela A.1: *Energia e ângulos-diedros das conformações de partida estudadas com 4 diedros pelo MASP.*

No.	Energia	Ψ_0	ω_0	ϕ_1	Ψ_1
422	-18.32	126.46	92.86	-6.19	-34.91
423	-87.419	-103.55	172.86	-106.18	-34.91
424	-22.78	-163.55	102.86	63.82	-14.9
425	23.676	-63.55	-47.14	-6.19	85.09
431	-86.224	173.61	172.86	153.8	-34.9
432	-82.594	133.61	122.85	173.8	-174.89
433	-23.914	73.61	32.86	63.8	-34.9
434	-42.053	173.61	102.86	73.79	-34.9
435	-15.52	-66.39	-87.14	143.79	104.71
441	-64.561	-63.55	102.85	93.49	-162.52
442	-44.354	16.46	162.85	-16.52	-132.52
443	-47.975	-113.55	62.85	103.49	-2.53
444	-1.176	106.46	-77.15	93.49	-162.52
445	-73.451	-83.55	82.85	-146.52	77.48

Tabela A.2: *Energia e ângulos-diedros das conformações de partida estudadas com 5 diedros pelo MASP.*

No.	Energia	Ψ_0	ω_0	ϕ_1	Ψ_1	ω_1
511	-84.947	-173.83	172.47	-167.52	-37.3	-171.22
512	-63.385	-173.83	132.47	-167.52	-77.3	-81.22
513	-32.76	-123.83	172.47	-57.52	52.7	-171.22
514	-47.336	-173.83	32.47	-107.52	-157.3	-171.22
515	94.566	66.17	172.47	2.48	-37.3	-32.41
531	-84.724	66.17	172.47	-167.52	-37.3	-171.21
532	-57.093	-3.83	132.47	-167.52	-77.29	-81.21
533	-45.825	66.17	82.47	-117.52	12.7	-171.21
534	-65.064	-23.83	172.47	-107.52	-37.3	-81.19
535	-72.809	66.17	172.47	72.48	122.22	8.81
551	118.962	-53.83	-7.53	-47.52	-157.3	-50.48
552	102.739	-153.9	-7.52	92.48	-157.3	-22.11
553	73.099	-53.83	102.47	-47.52	-87.3	-88.58
554	-77.311	-53.83	172.25	-97.51	92.7	5.46
555	89.33	-53.83	-7.53	102.48	132.71	-24.94

Tabela A.3: *Energia e ângulos-diedros das conformações de partida estudadas com 6 diedros pelo MASP.*

No.	Energia	Ψ_0	ω_0	ϕ_1	Ψ_1	ω_1	ϕ_2
611	-90.394	63.22	172.51	-167.45	-36.19	-170.26	-166.31
612	-68.561	63.22	52.51	-167.45	-116.19	-170.26	-96.31
613	-72.969	63.22	172.51	-67.45	43.81	-100.26	-166.31
614	-68.621	63.22	172.51	-167.45	3.81	69.73	23.7
615	-58.602	-46.78	172.51	72.54	-36.19	-160.25	-46.3
621	239.127	-176.78	-7.49	-47.45	-156.19	-53.94	-78.82
622	78.786	-146.78	-7.49	-147.44	-156.19	-76.64	-27.98
624	-25.957	-176.78	-7.49	-97.44	-46.18	-74.41	-75.19
625	18.049	-176.78	111.51	-47.45	73.81	1.52	-19.34
631	128.275	-53.93	172.51	-47.45	-156.19	-53.94	-78.82
632	-60.211	-103.93	172.51	-77.44	-156.19	-15.36	69.4
633	-15.506	-53.93	122.51	12.56	53.81	-4.49	125.09
634	-76.384	-53.93	172.51	62.56	93.82	-0.68	164.85
635	9.465	-53.93	-17.49	-47.44	-66.19	-79.75	-105.92
651	121.118	-56.78	172.51	72.55	-156.19	-53.94	-78.82
652	-73.499	-56.78	122.51	22.54	83.81	3.86	136.96
653	-60.108	-56.78	172.51	102.55	-106.19	-82.77	50.67
654	-27.086	-116.78	172.51	72.55	13.81	-50.78	-47.31
655	90.204	-56.78	-97.48	72.55	-156.19	-24.88	-134.94

Tabela A.4: *Energia e ângulos-diedros das conformações de partida estudadas com 7 diedros pelo MASP.*

No.	Energia	Ψ_0	ω_0	ϕ_1	Ψ_1	ω_1	ϕ_2	Ψ_2
711	-125.436	-171.81	174.05	69.77	22.27	163.63	-91.31	160.25
712	-47.997	-71.81	104.05	9.76	22.27	-126.36	-91.31	70.23
713	-36.172	-171.81	-55.96	69.77	-147.78	163.63	128.69	160.25
714	-109.471	-171.81	174.05	-70.23	102.27	-86.79	-91.31	160.25
715	-85.623	-171.81	174.05	69.77	-108.14	-56.36	-61.3	-9.75
721	1412.576	-21.81	144.05	39.77	62.27	133.63	-31.31	110.25
722	-125.436	-171.81	174.05	69.77	22.27	163.63	-91.31	160.25
723	-108.611	-171.81	174.05	99.76	142.27	33.63	-91.31	160.25
724	-88.176	-171.81	74.05	69.77	22.27	163.63	38.69	30.22
725	-92.173	-171.81	94.05	69.76	22.27	163.63	38.69	30.22
731	-102.312	-171.81	94.05	69.77	22.27	113.63	-11.31	160.25
732	-120.563	-171.81	174.05	69.77	72.27	163.63	-141.53	90.24
733	-85.507	-171.81	174.05	-20.24	-27.73	-106.36	-141.3	160.25
734	-109.383	-171.81	-95.96	119.76	42.27	163.63	-31.3	120.25
735	-108.176	-1.81	174.05	39.76	22.27	-160	-91.31	160.25

Tabela A.5: *Energia e ângulos-diedros das conformações de partida estudadas com 8 diedros pelo MASP.*

No.	Energia	Ψ_0	ω_0	ϕ_1	Ψ_1	ω_1	ϕ_2	Ψ_2	ω_2
811	-113.234	62.87	172.71	-167.79	-34.17	-165.29	-69.44	-41.11	11.28
812	-83.694	62.87	142.71	-167.79	-4.16	-165.29	-29.44	-41.11	11.28
813	-62.647	62.87	172.71	-137.79	-34.17	-115.29	-69.44	-11.11	11.28
814	-82.462	62.87	112.71	-137.79	-34.17	-115.29	-69.44	-51.11	-28.72
815	-113.234	62.87	172.71	-167.79	-34.17	-165.29	-69.44	-41.11	11.28
821	-100.489	65.74	172.71	-47.79	-154.17	-165.29	50.56	-161.11	-168.72
822	-65.508	65.74	92.71	-17.79	-114.16	-165.29	80.56	-161.11	-168.72
823	-100.489	65.74	172.71	-47.79	-154.17	-165.29	50.56	-161.11	-168.72
824	-85.849	65.74	172.71	-47.79	-34.16	-165.29	10.56	-161.11	1.28
825	-81.608	65.74	172.71	-47.79	-154.17	-165.29	-19.44	-121.11	-98.72
831	-100.52	-54.26	172.71	-47.78	85.83	-165.29	50.56	-161.11	-168.72
832	-68.951	-54.26	132.71	-87.78	85.83	-165.29	50.56	-161.11	-58.72
833	27.854	-54.26	172.71	-47.78	55.82	-165.29	0.56	-161.11	-98.72
834	-75.309	-54.26	172.71	2.22	85.83	-125.29	80.56	-161.11	-168.72
835	-78.399	-54.26	-17.29	-47.78	115.82	-165.29	50.56	-91.11	-168.72
851	-96.85	-54.26	172.71	-47.78	-154.16	-165.29	50.56	78.88	-168.72
852	-80.2	-54.26	172.71	22.22	-154.16	-95.29	30.56	78.88	-168.72
853	-92.597	-54.26	142.71	-47.78	-94.16	-165.29	90.55	78.88	-168.72
854	-91.783	-54.26	172.71	-67.78	-154.16	-165.29	50.56	108.88	-108.71
855	267.296	-54.26	172.71	-47.78	-154.16	-65.29	50.56	8.86	101.28

Tabela A.6: Energia e ângulos-diedros das conformações de partida estudadas com 9 diedros pelo MASP.

No.	Energia	Ψ_0	ω_0	ϕ_1	Ψ_1	ω_1	ϕ_2	Ψ_2	ω_2	ϕ_3
911	-113.348	-54.29	172.65	-47.61	-34.38	-165.62	170.72	-162.91	-164.16	71.01
912	-87.193	-114.29	132.65	-47.61	-84.36	-165.62	130.72	-162.91	85.84	71.01
913	-100.987	-54.29	-37.35	-47.61	-64.36	144.38	-99.27	-162.91	-164.16	-78.98
914	-84.518	-54.29	172.65	-127.61	-34.38	-115.62	170.72	-112.91	105.84	71.01
915	-72.936	-54.29	-7.35	-77.61	125.64	-165.62	60.72	127.09	-124.15	71.01
921	-102.733	25.71	172.65	-97.61	85.61	104.36	-69.26	-132.89	-164.16	30.98
922	-111.864	-54.29	172.65	-167.61	85.61	-165.63	-69.26	-162.9	-164.16	71
923	-93.065	-4.29	152.65	-167.61	45.61	-165.63	-69.26	-112.89	-114.15	71
924	-80.25	-54.29	172.65	-127.61	105.61	-135.63	-29.26	-162.9	65.84	71
925	-107.52	-54.29	172.65	-167.61	85.61	124.36	-69.26	-72.89	-134.15	71
931	-102.377	-177.17	172.65	-47.61	-154.38	-165.63	50.72	77.09	-164.16	71
932	-51.271	-177.17	142.65	-7.61	-154.38	-135.63	50.72	77.09	-134.16	71
933	-80.93	-157.17	172.65	-47.61	-114.37	-165.63	20.72	27.08	-164.16	71
934	-98.962	-177.17	172.65	-47.61	-14.36	134.36	110.71	117.08	-164.16	71
935	-96.677	-177.17	-37.35	-47.61	-174.37	124.36	50.72	77.09	-164.16	10.98

Tabela A.7: Energia e ângulos-diedros das conformações de partida estudadas com 10 diedros pelo MASP.

No.	Energia	Ψ_0	ω_0	ϕ_1	Ψ_1	ω_1	ϕ_2	Ψ_2	ω_2	ϕ_3	Ψ_3
1011	-142.489	-176.49	169.69	64.9	76.53	-160.51	167.02	-43.58	7.09	85.61	-153.38
1012	-126.889	-176.49	139.69	34.9	76.53	-160.51	167.02	-43.58	47.08	85.61	-73.38
1013	-83.904	-176.49	169.69	64.9	116.53	-160.51	167.02	-13.58	7.08	45.61	-153.38
1014	75.398	-176.49	169.69	64.9	76.53	-0.5	137.02	-43.58	-22.92	85.61	-23.38
1015	-137.975	-176.49	169.69	124.9	76.53	-160.51	167.02	36.42	7.09	125.61	-153.38
1021	-69.157	60.59	169.69	64.91	76.52	19.47	-72.98	-163.57	7.09	85.61	-153.38
1022	-99.751	60.59	109.69	34.91	106.51	19.47	-72.98	-163.57	7.09	85.61	-153.38
1023	-95.065	60.59	169.69	64.91	76.52	59.47	-72.98	-163.57	67.09	125.61	-123.38
1024	-105.142	60.59	129.69	64.91	76.52	19.47	-112.98	-113.57	7.09	85.61	-153.38
1025	2.241	60.59	169.69	104.91	76.52	-30.53	-72.98	-163.57	7.09	45.61	46.61

Tabela A.8: Energia e ângulos-diedros das conformações de partida estudadas com 13 diedros pelo MASP.

No.	Energia	Ψ_0	ω_0	ϕ_1	Ψ_1	ω_1	ϕ_2	Ψ_2	ω_2	ϕ_3	Ψ_3	ω_3	ϕ_4	Ψ_4
13	-184.73	79.45	-169.01	-44.73	-44.75	-178.22	-84.22	44.47	179.30	-144.22	-59.37	178.07	123.51	-2.22

Tabela A.9: *Energia e ângulos-diedros dos mínimos encontrados com 4 diedros pelo MASP.*

No.	Energia	Ψ_0	ω_0	ϕ_1	Ψ_1
422	-104.274	61.78	-178.95	-83.13	66.72
423	-103.408	-71.55	-179.41	-82.75	67.07
424	-102.644	-70.69	179.31	76.13	-62.56
425	-98.2271	-81.34	-10.66	-89.84	121.92
431	-103.242	114.3	-178.49	-83.48	66.69
432	-101.853	163.06	171.35	-105.43	146.04
433	-102.644	167.02	179.31	76.13	-62.57
434	-102.644	167.03	179.35	76.11	-62.49
435	-92.9575	-49.21	-54	81.07	63.19
441	-102.644	-70.61	179.32	76.14	-62.5
442	-103.619	63.13	179.86	75.53	-62.72
443	-102.644	-70.67	179.33	76.11	-62.53
444	-89.6732	62.28	-26.15	70.25	-133.95
445	-101.853	-74.71	171.37	-105.43	145.92

Tabela A.10: *Energia e ângulos-diedros dos mínimos encontrados com 5 diedros pelo MASP.*

No.	Energia	Ψ_0	ω_0	ϕ_1	Ψ_1	ω_1
511	-99.913	-167.26	-178.76	-84.82	67.76	178.44
512	-99.913	-167.31	-178.76	-84.79	67.73	178.41
513	-99.971	-71.62	-179.61	-83.64	68.56	178.31
514	-98.42	-74.59	171.34	-105.74	145.4	-178.89
515	-100.152	63.17	-179.78	76.28	-63.28	-178.08
531	-100.834	61.74	-179.18	-84.02	68.16	178.34
532	-97.545	62.53	178.67	-119.14	-56.88	-177.1
533	-100.834	61.73	-179.18	-84.03	68.13	178.33
534	-99.971	-71.57	-179.61	-83.63	68.57	178.32
535	-98.694	58.98	171.74	-108.41	146.9	-7.49
551	-94.395	159.04	-14.11	-89.42	141.35	-1.76
552	-99.25	-165.05	-179.31	75.98	-63.46	-177.97
553	-95.261	-71.13	179.48	-108.1	-47.3	2.91
554	-98.017	164.39	174.98	-95.44	112.5	-5.63
555	-99.176	167.22	179.74	76.85	-63.12	-178.24

Tabela A.11: *Energia e ângulos-diedros dos mínimos encontrados com 6 diedros pelo MASP.*

No.	Energia	Ψ_0	ω_0	ϕ_1	Ψ_1	ω_1	ϕ_2
611	-106.435	70.2	-179.45	-84.85	62.97	174.63	-113.79
612	-106.435	70.17	-179.45	-84.85	62.96	174.63	-113.77
613	-106.435	70.17	-179.45	-84.85	62.96	174.63	-113.77
614	-104.149	70.38	177.56	-103.34	100.63	4.89	84.29
615	-106.562	-61.53	179.64	76.28	-67.43	178.59	-121
621	-100.164	159.25	-14.67	-86.53	145.51	22.18	98.6
622	-106.404	166.16	-179.35	-83.36	74.05	-177.89	117.83
624	-105.091	-74.67	171.59	-103.82	145.53	-175.93	110.19
625	-104.331	162.99	170.99	-105.93	146.75	-6.77	177.15
631	-104.472	-65.84	170.83	-113.52	150.59	11.81	106.27
632	-104.932	163.12	170.77	-109.62	147.6	176.02	-119.14
633	-104.331	-74.79	170.99	-105.97	146.78	-6.75	177.19
634	-98.423	166.61	-169.8	113.24	73.99	22.58	76.4
635	-101.191	149.87	-3.07	-75.57	-55.2	-16.61	-97.66
651	-105.464	58.73	171.64	-97.1	144.48	-14.44	-74.19
652	-105.085	-63.66	176.73	-101.44	102.09	4.34	84.07
653	-101.9	71.96	-177.59	-118.69	-58.93	12.04	92.68
654	-106.669	-61.37	-178.97	76.37	-59.35	-175.06	113.63
655	-104.472	-65.86	170.83	-113.51	150.6	11.8	106.27

Tabela A.12: *Energia e ângulos-diedros dos mínimos encontrados com 7 diedros pelo MASP.*

No.	Energia	Ψ_0	ω_0	ϕ_1	Ψ_1	ω_1	ϕ_2	Ψ_2
711	-144.543	-71.01	178.87	77.64	-62.42	-177.17	-83.31	65.13
712	-138.875	-158.3	-166.18	91.68	-164.32	176.81	-112.29	139.23
713	-136.187	-144.09	8.79	65.05	150.66	170.46	-105.25	151.83
714	-142.998	61.38	178.04	-94.97	107.31	-15.17	-115.32	126.77
715	-136.577	-158.18	-165.2	99.87	151.12	-8.03	-76.93	-58.81
721	-20.908	-156.89	-154.39	-131.45	59.59	-178.96	-84.47	64.87
722	-144.543	-71.03	178.87	77.64	-62.37	-177.14	-83.33	65.11
723	-138.029	-119.74	-13.83	66.51	48.17	173.66	-112.61	145.63
724	-144.103	-165.41	179.15	76.61	-64.06	179.37	75.73	-60.84
725	-144.051	-70.8	178.25	77.48	-63.78	179.11	75.89	-60.87
731	-144.632	-165.17	179.87	76.85	-62.43	-177.2	-83.23	65.56
732	-144.632	-165.18	179.89	76.84	-62.42	-177.19	-83.24	65.58
733	-141.352	-166.22	-179.37	-111.27	-52.48	171.19	-110.38	145.61
734	-144.543	-71	178.85	77.66	-62.41	-177.17	-83.34	65.01
735	-145.516	63.93	179.35	77.25	-62.08	-177.16	-83.2	65.43

Tabela A.13: *Energia e ângulos-diedros dos mínimos encontrados com 8 diedros pelo MASP.*

No.	Energia	Ψ_0	ω_0	ϕ_1	Ψ_1	ω_1	ϕ_2	Ψ_2	ω_2
811	-138.092	70.59	-176.28	-86.37	64.62	175.23	-112.98	-48.52	1.59
812	-138.092	70.62	-176.29	-86.36	64.64	175.26	-113.03	-48.54	1.64
813	-138.092	70.63	-176.29	-86.37	64.64	175.24	-113.02	-48.55	1.65
814	-133.963	169.52	176.21	-113.73	-55.15	-178.57	-112.89	-47.16	3.84
815	-138.092	70.57	-176.28	-86.38	64.61	175.22	-112.98	-48.51	1.58
821	-141.52	63.01	178.77	76.89	-63.74	179.57	76.6	-61.49	-178.08
822	-141.52	63.04	178.78	76.89	-63.76	179.58	76.59	-61.5	-178.09
823	-142.315	61.01	-178.47	-85.33	67.67	178.49	76.4	-63.05	-177.58
824	-138.319	60.93	179.71	-111.79	-54.89	170.59	-110.18	147.47	-7.8
825	-140.158	59.63	173.8	-110.36	142.08	177.44	76.79	-62.33	-178.38
831	-137.54	-61.05	176.08	-82.97	73.31	-166.4	84.87	-179.25	177.69
832	-136.307	-59.93	175.93	-82.38	74.58	-164.49	91.66	155.86	7
833	-138.584	-91.43	2.14	-80.75	-55.85	179.17	77.04	-63.45	-177.57
834	-142.06	63.95	179.51	77.19	-61.98	-177.3	-84.2	67.01	177.62
835	-136.241	-81.24	-10.96	-89.63	126.35	179.59	76.5	-63.31	-178.16
851	-140.239	-74.64	171.62	-105.87	146.97	-178.84	-85.08	67.86	178.1
852	-135.196	-121.92	-18.33	72.32	57.6	177.56	76.6	-63.32	178.97
853	-135.749	-167.41	167.22	46.41	56.3	-175.46	77.83	-57.57	172.61
854	-139.482	58.97	171.55	-111.09	150.25	171.36	-107.48	148.3	-179.52
855	-141	59.2	172.38	-108.09	145	-178.9	-85.06	67.84	178.09

Tabela A.14: *Energia e ângulos-diedros dos mínimos encontrados com 9 diedros pelo MASP.*

No.	Energia	Ψ_0	ω_0	ϕ_1	Ψ_1	ω_1	ϕ_2	Ψ_2	ω_2	ϕ_3
911	-144.674	-58.15	170.66	-85.78	-31.19	167.02	-105.84	147.61	-175.18	109.15
912	-144.674	-58.13	170.66	-85.78	-31.18	167.03	-105.85	147.6	-175.18	109.19
913	-143.567	-106.41	10.01	-78.65	-37.25	172.77	-97.32	153.62	176.41	-119.95
914	-142.358	-73.06	174.67	-118.82	-61.44	178.99	-132.54	-60.53	-173.31	104.73
915	-142.778	-81.14	-11.16	-89.39	127.22	-179.83	76.68	-59.48	-175.34	112.87
921	-147.536	59.19	172.32	-108.36	145.18	-179.49	-85.19	63.2	174.36	-113.29
922	-145.383	-74.93	170.81	-108.74	151.13	171.74	-105.72	148.06	-176.22	110.87
923	-147.116	62.1	-177.76	-84.19	70.47	177.57	-113.24	-49.08	-176.51	116.11
924	-144.267	-74.18	172.65	-100.85	137.48	178.3	-125.01	-57.48	-174.36	107.84
925	-146.23	-70.96	-178.14	-83.82	70.95	177.54	-113.18	-49.08	-176.51	116.07
931	-146.764	-62.75	172.41	-99.79	128.73	-179.33	76	-65.75	175.97	-115.73
932	-147.082	166.99	178.48	77.44	-63.16	-179.87	76.73	-57.67	-175.15	113.08
933	-147.989	165.97	-179.16	-84.7	68.74	179.22	76.6	-58.94	-174.36	112.97
934	-144.718	156.16	171.77	-98.26	-51.22	163.92	-100.98	153.42	-175.52	111.24
935	-145.127	147.42	1.86	-80.58	-55.75	179.99	77.13	-59.53	-174.62	112.73

Tabela A.15: *Energia e ângulos-diedros dos mínimos encontrados com 10 diedros pelo MASP.*

No.	Energia	Ψ_0	ω_0	ϕ_1	Ψ_1	ω_1	ϕ_2	Ψ_2	ω_2	ϕ_3	Ψ_3
1011	-169.811	-62.8	178.34	77.45	-35.9	-164.35	-96.36	-42.35	11.05	79.42	-157.24
1012	-170.605	-162.11	179.98	76.79	-61.23	-178.47	-125.43	-62.41	5.28	108.55	25.28
1013	-171.137	-71.56	179.53	78.17	-60.24	179.73	-94.59	111.92	-9.3	83.49	163.49
1014	-165.866	-168.33	173.15	-101.53	126.78	-13.37	-154.18	-56.49	6.13	94.05	-26.09
1015	-170.504	-167.58	171.85	-110.95	148.77	171.82	-93.05	145.61	-13.53	162.31	-140.72
1021	-169.276	67.71	178.61	-101.86	105.5	-11.71	-136.51	154.03	-1.47	104.67	-109.4
1022	-167.935	69.39	171.76	-113.49	153.67	-17.89	-90.6	152.54	-11.94	141.38	-134.22
1023	-167.6	76.82	178.66	94.01	63.7	7.18	-96.7	-61.68	175.45	118.34	176.06
1024	-167.888	69.37	173.55	-81.04	135.72	22.87	-86.75	-54.02	9.19	75.76	-149.63
1025	-170.224	176.47	177.55	78.62	-60.99	-177.7	-128.78	-61.32	0.99	115.3	37.64

Tabela A.16: *Energia e ângulos-diedros dos mínimos encontrados com 13 diedros pelo MASP.*

No.	Energia	Ψ_0	ω_0	ϕ_1	Ψ_1	ω_1	ϕ_2	Ψ_2	ω_2	ϕ_3	Ψ_3	ω_3	ϕ_4	Ψ_4
13	-219.77	72.40	-174.27	-99.78	-40.70	-179.10	-83.41	59.58	172.82	125.72	-59.49	173.10	-118.81	-37.68

Autorizo a reprodução xerográfica para fins de pesquisa.

São José do Rio Preto, 07/11/2009

Assinatura