

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
CENTRO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA
CELULAR E MOLECULAR

Elisa Beatriz de Oliveira John

Desenvolvimento de parâmetros para simulação de
flavonoides e chalconas no campo de força GROMOS

Porto Alegre

2017

Elisa Beatriz de Oliveira John

**Desenvolvimento de parâmetros para
simulação de flavonoides e chalconas no
campo de força GROMOS**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular do Centro de Biotecnologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Mestre em Biologia Celular e Molecular.

Orientador: Hugo Verli

Porto Alegre

2017

John, Elisa Beatriz de Oliveira

Desenvolvimento de parâmetros para simulação de flavonoides e chalconas no campo de força GROMOS/ Elisa Beatriz de Oliveira John. – Porto Alegre, 2017-91 f.

Orientador: Hugo Verli

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Centro de Biotecnologia do Estado do Rio Grande do Sul, Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, Porto Alegre, BR-RS, 2017.

1, Dinâmica molecular. 2, Flavonoides. 3, Chalconas. 4, GROMOS I. Verli, Hugo, orient. II. Título

Elisa Beatriz de Oliveira John

Desenvolvimento de parâmetros para simulação de flavonoides e chalconas no campo de força GROMOS

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular do Centro de Biotecnologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Mestre em Biologia Celular e Molecular.

Banca Examinadora:

Prof. Hugo Verli
Orientador

Prof. Márcio Dorn
Instituto de Informática - UFRGS

Prof. Paulo Augusto Netz
Instituto de Química - UFRGS

Prof. Felipe Ricachenevsky
Departamento de Biologia - UFSM

Dra. Cláudia Lemelle Fernandes
(Suplente)
Pós-Doutora - UFRGS

Porto Alegre, 17 de Fevereiro
2017

Agradecimentos

Ao meu orientador, Hugo Verli, por ter oferecido a oportunidade para desenvolver este trabalho e pelo suporte intelectual envolvido. Obrigada também por toda a paciência, desde os tempos de iniciação científica.

Aos membros da comissão de acompanhamento, Rodrigo Ligabue-Braun e Laércio Pol-Fachin, pela disponibilidade para ajudar em diversos aspectos do trabalho.

Aos membros do Grupo de Bioinformática Estrutural (e agregados), por todo o companheirismo ao longo destes anos. Alguns agradecimentos nominais, pois prometi: ao Pablo, por toda ajuda na reta final dos experimentos; ao Rodrigo, pelos conselhos e suporte em assuntos aleatórios; à Carla, pela companhia e conversas durante o período final (e de mais ansiedade) da realização deste trabalho; à Bianca, pelas pep talks e pelos bolinhos; ao Conrado, pelas caronas e pelos efeitos sonoros durante as tardes de trabalho no laboratório; ao Marcelo, pelos scripts que tanto facilitaram algumas tarefas e pelo doce de leite de Viçosa.

Aos amigos próximos, por ouvirem minhas reclamações e pelo esforço em tentarem entender sobre o meu trabalho. Ao Juliano, pela ajuda em vários momentos e pela companhia para comer docinhos.

À minha família, por todo suporte, amor e ajuda nos tempos mais difíceis.

Aos funcionários do Cbiot e PPGBCM, por toda prestatividade.

À Capes, pela bolsa.

A todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho (e para o meu crescimento pessoal neste período).

“I was sitting writing at my textbook but the work did not progress; my thoughts were elsewhere. I turned my chair to the fire and dozed. Again the atoms were gamboling before my eyes. This time the smaller groups kept modestly in the background. My mental eye, rendered more acute by repeated visions of the kind, could now distinguish larger structures of manifold conformation: long rows, sometimes more closely fitted together all twining and twisting in snake-like motion. But look! What was that? One of the snakes had seized hold of its own tail, and the form whirled mockingly before my eyes. As if by a flash of lightning I awoke; and this time also I spent the rest of the night in working out the consequences of the hypothesis. *Let us learn to dream, gentlemen, then perhaps we shall find the truth.* But let us beware of publishing our dreams till they have been tested by the waking understanding.”

- **Friedrich August Kekulé**, Benzolfest speech (1890)

Resumo

Chalconas e flavonoides são compostos comumente presentes em plantas, e constituem uma grande família de produtos naturais com um amplo espectro de atividades farmacológicas. Mudanças na estrutura destas moléculas tem se provado úteis no desenvolvimento de novos agentes terapêuticos, sendo assim, esses compostos tem sido intensamente estudados. Métodos computacionais como a dinâmica molecular (DM) são ferramentas poderosas para o acesso a informações de difícil obtenção por outros meios experimentais. Campos de força acurados são essenciais para a descrição de sistemas biológicos em simulações de DM, assim, um conjunto de parâmetros associado a um composto necessita ser cuidadosamente calibrado para garantir a obtenção de resultados confiáveis. Considerando a relevância dessa família de moléculas e a falta de parâmetros validados para a estrutura básica de chalconas e flavonoides no campo de força GROMOS, o presente trabalho tem como objetivo prover um novo conjunto de parâmetros para a simulação destes compostos. Um protocolo que combina cálculos *ab initio* e simulações de DM foi aplicado para obter novas cargas atômicas e parâmetros torsionais. Propriedades experimentais como densidade e entalpia de vaporização foram usadas como comparação aos valores obtidos em simulações, como forma de validação dos parâmetros. A comparação dos perfis torsionais obtidos por cálculos quânticos e por mecânica molecular auxiliou na geração de novos potenciais que permitem uma descrição conformacional mais acurada dos diedros de interesse. Diversos ajustes em grupos de cargas foram feitos, e os valores para propriedades termodinâmicas obtidos nas simulações estão em concordância com os dados experimentais. Simulações de metadinâmica foram realizadas para avaliar o comportamento conformacional de chalconas e flavonoides completos, e contatos de NOE foram medidos durante simulações de DM, obtendo uma reprodução quase completa das distâncias entre alguns grupos de prótons. O protocolo empregado gerou parâmetros de campo de força que reproduzem bem dados experimentais, e espera-se que estes resultados contribuam para a realização de estudos computacionais acurados envolvendo chalconas e flavonoides.

Palavras-chaves: Campos de força. Chalconas. Flavonoides. Dinâmica Molecular. GROMOS.

Abstract

Chalcones and flavonoids are polyphenolic compounds extensively distributed in plants, constituting a large family of natural products with a broad spectrum of pharmacological activities. Changes in their structure have been proven useful for the development of new therapeutic agents, thus these biomolecules are being intensively studied and modified. Computational methods such as molecular dynamics (MD) simulations are powerful tools to assess information that is difficult to obtain experimentally. Accurate force fields are essential for describing biological systems in a MD simulation, thus a parameter set associated to a certain compound need to be carefully calibrated to ensure reliable results. Considering the relevance of this family of molecules and the lack of validated parameters for the basic structure of chalcones and flavonoids in the GROMOS force field, this work intends to provide a new parameter set for the simulation of these compounds. We employed a protocol combining *ab initio* calculations and MD simulations for the obtention of new atomic charges and torsional parameters. Experimental properties such as density and enthalpy of vaporization were compared to the calculated values in order to validate the parameters. A fitting of molecular-mechanical to quantum-mechanical torsional profiles was performed for each of the dihedrals of interest in the structures, generating new torsional potentials that provide accurate description of conformational behavior. Additionally, adjustments in charge groups were made in topologies used for the MD simulations and the obtained values of the thermodynamic properties are in good agreement with experimental data. Metadynamics simulations were performed to evaluate the conformation of complete chalcones and flavonoids, and NOE contacts during MD simulations were measured, obtaining an almost complete reproduction of inter-proton interactions. The employed protocol generated force field parameters that reproduce well the target data and we expect they will contribute to more accurate computational studies on the biological role of chalcones and flavonoids.

Keywords: Force Field. Chalcones. Flavonoids. Molecular Dynamics. GROMOS.

Lista de ilustrações

Figura 1 – Fármacos baseados em pequenas moléculas aprovados entre 1981 e 2014	14
Figura 2 – Estrutura dos núcleos fundamentais de chalconas e flavonoides, com seu esquema de numeração dos carbonos.	16
Figura 3 – Estrutura básica das principais subclasses de flavonoides e chalconas.	16
Figura 4 – Biossíntese de chalconas e flavonoides	18
Figura 5 – Composição geral dos termos de um campo de força para dinâmica molecular.	21
Figura 6 – Esquema representativo do protocolo de simulações para avaliação das propriedades termodinâmicas da fase condensada.	27

Lista de tabelas

Tabela 1 – Exemplos de atividades farmacológicas associadas a diferentes chalconas e flavonoides naturais	19
---	----

Lista de abreviaturas e siglas

DM	Dinâmica Molecular
ESP	<i>Electrostatic Potential derived Surface</i>
GL	Graus de Liberdade
MD	<i>Molecular Dynamics</i>
NOE	<i>Nuclear Overhauser Effect</i>
NPT	<i>Constant number, pressure and temperature (ensemble isotérmico-isobárico)</i>
NVT	<i>Constant number, volume and temperature (ensemble canônico)</i>
PCM	<i>Polarizable Continuum Model</i>
PME	<i>Particle Mesh Ewald</i>
QM	<i>Quantum mechanics</i>
RMN	Ressonância Magnética Nuclear

Lista de símbolos

ΔH_{vap}	Entalpia de vaporização
ρ	Densidade
k_B	Constante de Boltzmann [0,0083 $kJ/(mol \times K)$]
K	Kelvin

Sumário

1	INTRODUÇÃO	14
1.1	Produtos naturais no campo do desenvolvimento de novos fármacos	14
1.2	Flavonoides e chalconas	15
1.2.1	Estrutura básica e biossíntese	15
1.2.2	Interesse nas atividades farmacológicas	17
1.3	Caracterização de biomoléculas por métodos computacionais	20
1.3.1	Campos de força	20
2	JUSTIFICATIVA	23
3	OBJETIVO	24
4	METODOLOGIA	25
4.1	Estratégia de parametrização e escolha das moléculas de trabalho	25
4.2	Construção de topologias	25
4.2.1	Obtenção de cargas atômicas parciais	25
4.2.2	Obtenção de parâmetros torsionais	26
4.3	Avaliação das propriedades termodinâmicas da fase condensada	26
4.4	Avaliação conformacional de chalconas e flavonoides completos	28
4.4.1	Metadinâmica	29
4.4.2	Comparação com dados de RMN	29
5	RESULTADOS	30
6	DISCUSSÃO	60
7	CONCLUSÕES	62
8	PERSPECTIVAS	63
	REFERÊNCIAS	64
	ANEXOS	71
	ANEXO A – TOPOLOGIAS	72

1 Introdução

1.1 Produtos naturais no campo do desenvolvimento de novos fármacos

Historicamente, produtos naturais tem uma importância reconhecida na terapêutica, e substâncias provenientes de plantas, em particular, formaram a base para os sistemas medicinais tradicionais [1,2]. Mesmo após um certo declínio no investimento em moléculas naturais, em favor de técnicas como a química combinatória para a geração de bibliotecas sintéticas [3,4], os produtos naturais ainda tem um papel dominante como fontes de novos fármacos e compostos-líder. Em uma análise [5] de todos os fármacos aprovados pela FDA (*Food and Drug Administration*, agência regulatória americana para administração de medicamentos e alimentos) entre 1981 e 2014, viu-se que pelo menos metade dos medicamentos que se constituem de pequenas moléculas são relacionados com produtos naturais, sendo produtos naturais inalterados, derivados ou moléculas sintéticas com a presença de um farmacóforo (porção estrutural carregando as características essenciais necessárias para a atividade) natural (Figura 1).

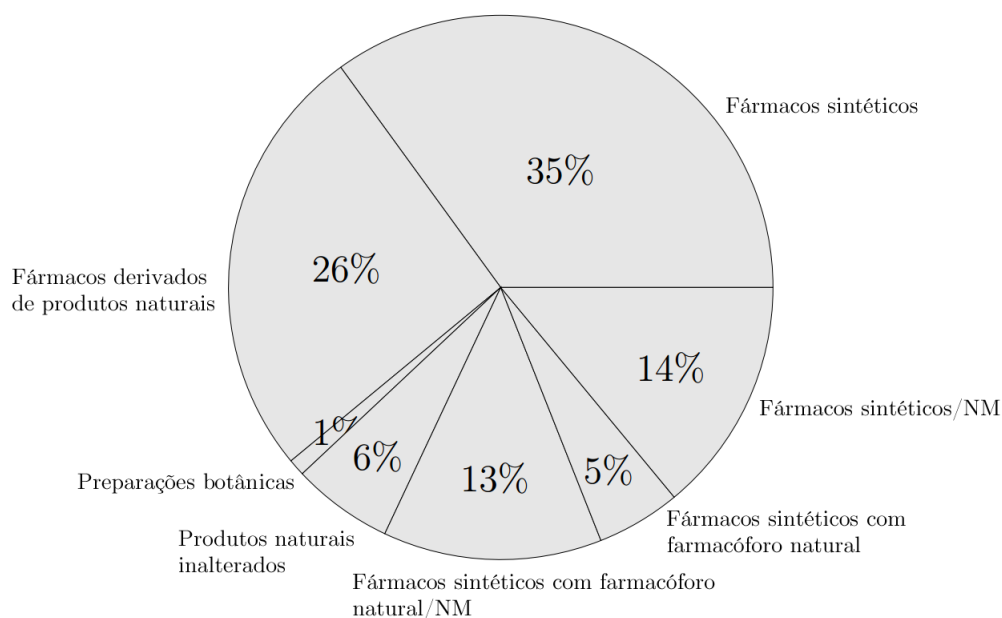


Figura 1 – Fármacos baseados em pequenas moléculas aprovados entre 1981 e 2014 (n=1211). As categorias marcadas com "/NM" referem-se a fármacos que atuam como "mímicos" de produtos naturais, ou seja, são inibidores competitivos de substratos naturais (Adaptado de Newman e Cragg [5]).

Compostos naturais frequentemente possuem atividades biológicas altamente específicas e seletivas, além de exibirem uma enorme diversidade estrutural [6]. Por este aspecto, entre os produtos naturais de origem vegetal, observa-se existência de muitas famílias diferentes de compostos, como flavonoides, lignanas, cumarinas, cromonas, quinonas, alcaloides, entre outras, que são de interesse frequente para o desenvolvimento de fármacos.

1.2 Flavonoides e chalconas

Flavonoides constituem um grupo de substâncias com estruturas fenólicas variáveis, que são comumente encontradas em frutas, flores, folhas, raízes e grãos, contribuindo na sua pigmentação [7, 8]. A presença destes metabólitos secundários nos vegetais também está relacionada com funções de defesa (proteção contra raios ultravioleta e contra a ação de microorganismos) [9, 10], atração de animais polinizadores [11], controle da ação de hormônios vegetais [12] e inibição de enzimas [13, 14]. Chalconas são compostos relacionados, considerados "flavonoides abertos", que atuam como precursores na síntese destas moléculas [15].

Dados epidemiológicos sugerem um efeito protetor contra algumas doenças decorrente de dietas ricas em compostos polifenólicos [16]. Esta suposta associação do benefício da ingestão de flavonoides veio antes mesmo de estudos robustos, uma vez que no início do século XX já eram investigados efeitos de flavonoides na nutrição (inclusive com a classificação destas moléculas como "vitamina P" [17]). Uma característica marcante destas moléculas, que as relacionaria com seus benefícios, é sua potente ação antioxidante (observada principalmente *in vitro*), através de mecanismos como quelação de elementos traços envolvidos na formação de radicais livres e ação direta de *scavenging* de moléculas reativas [18].

1.2.1 Estrutura básica e biossíntese

O esqueleto básico dos flavonoides (Figura 2) consiste em dois anéis aromáticos (A e B) conectados por um anel heterocíclico (C) [19]. Algumas pequenas variações nesta estrutura básica de 15 átomos de carbono distinguem as principais subclasses de flavonoides (Figura 3). As chalconas, ou flavonoides abertos, apresentam no seu esqueleto principal dois anéis aromáticos (A e B) unidos por um sistema carbonil α, β insaturado, que sugere uma maior flexibilidade estrutural quando comparado aos esqueletos de flavonoides heterocíclicos.

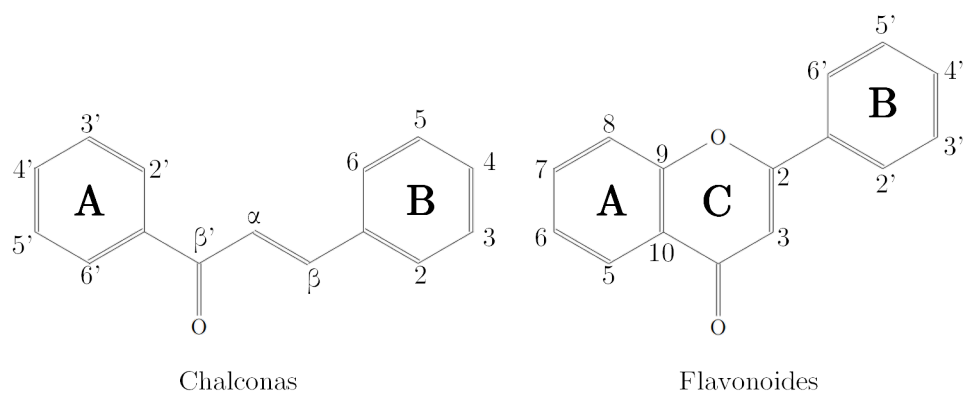


Figura 2 – Estrutura dos núcleos fundamentais de chalconas e flavonoides, com seu esquema de numeração dos carbonos.

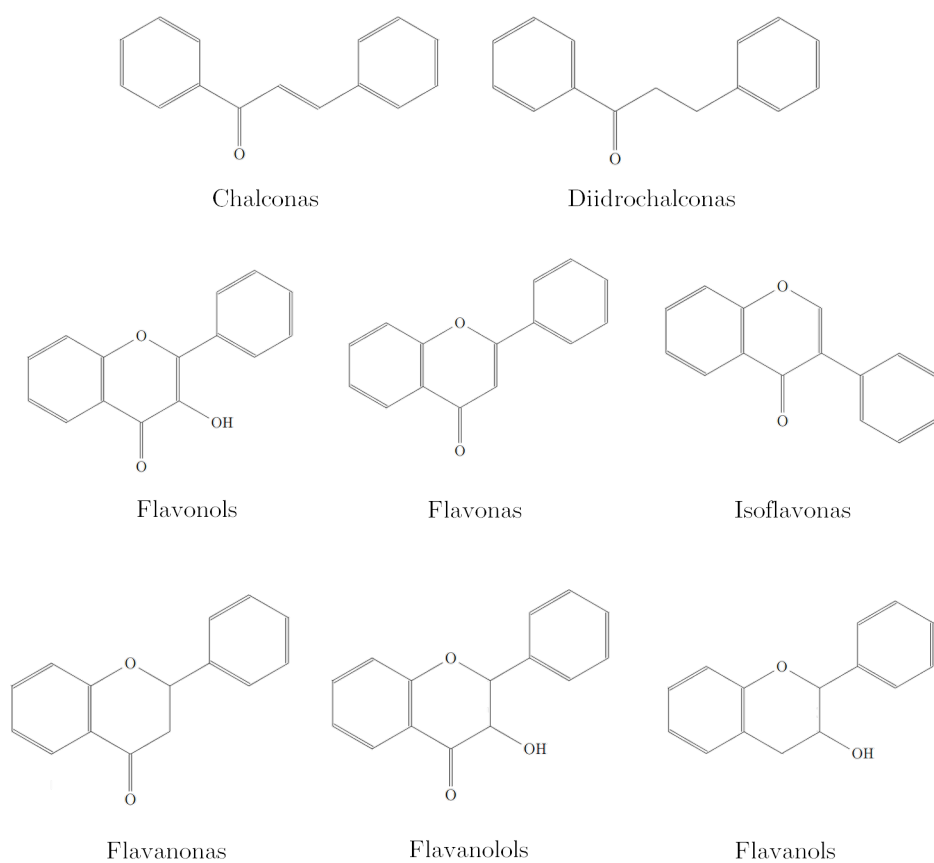


Figura 3 – Estrutura básica das principais subclasses de flavonoides e chalconas.

A estrutura básica dos flavonoides resulta de rotas biossintéticas distintas [8], esquematizadas na Figura 4. O anel A é formado pela condensação de três moléculas de malonil-CoA, derivadas de vias do metabolismo energético, enquanto o anel B e a base de três carbonos para o anel C são formados a partir de p-cumaril-CoA, derivado da via do ácido chiquímico. A partir destes intermediários, a enzima chalcona sintase catalisa a formação da estrutura básica de chalconas, que, subseqüentemente, pode ser alvo da enzima chalcona isomerase para a conversão em flavanonas, com a ciclização do sistema insaturado central. As flavanonas são ponto de partida para a formação de outros tipos de flavonoides, através de processos de adição de insaturação no anel C e hidroxilação em diferentes posições.

O esqueleto básico de flavonoides e chalconas pode ser modificado pela adição de diversos tipos de substituintes nos aneis, como hidroxilas, metoxilas, metilas, subunidades isoprenoides, entre outros. Muitos destes compostos apresentam-se também conjugados a açúcares (nessa forma, chamados de glicosídeos ou heterosídeos), a partir da formação de ligações glicosídicas em grupos hidroxila da forma aglicona (porção do metabólito sem carboidrato).

1.2.2 Interesse nas atividades farmacológicas

Chalconas e flavonoides tem sido muito estudados quanto às suas propriedades biológicas, que podem inspirar a produção de novos produtos farmacológicos [20]. Há relatos de uma ampla gama de propriedades atribuídas a diferentes compostos, incluindo atividade antiproliferativa, antimicrobiana, antiinflamatória, entre outras (alguns compostos naturais com atividade caracterizada estão listados na Tabela 1).

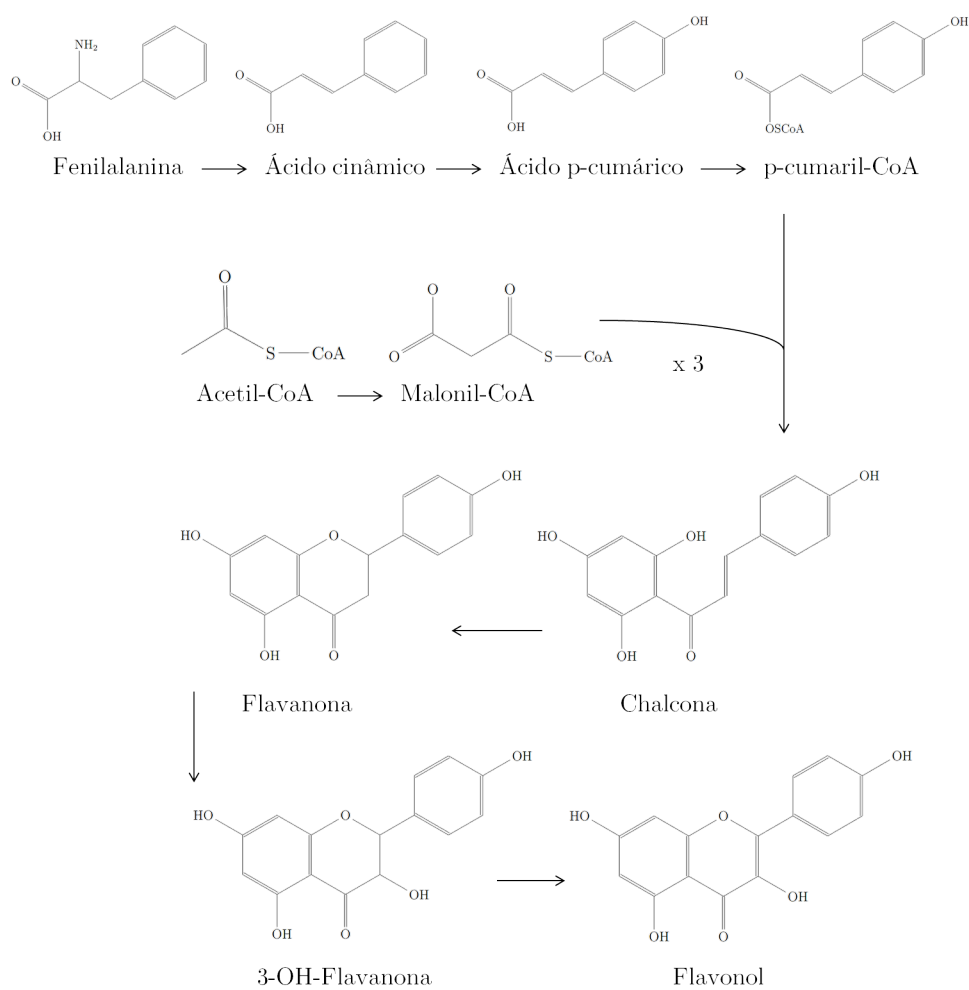
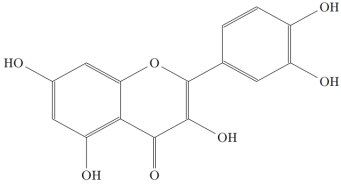
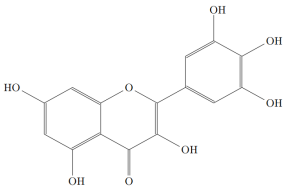
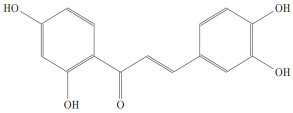
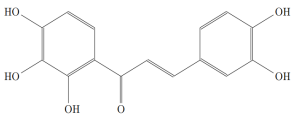
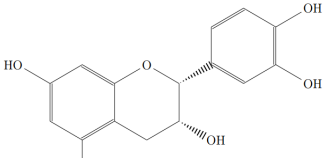
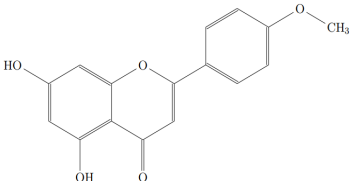
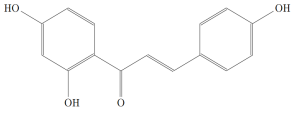


Figura 4 – Biossíntese de chalconas e flavonóides.

Tabela 1 – Exemplos de atividades farmacológicas associadas a diferentes chalconas e flavonoides naturais

Composto	Atividade
 <p>Quercetina^a</p>	Antiinflamatória [21], antiproliferativa [22], antitrombótica [23], antiviral [24]
 <p>Miricetina^a</p>	Antitrombótica [25]
 <p>Buteína^a</p>	Antiproliferativa [26,27]
 <p>Okanina^a</p>	Antiinflamatória [28]
 <p>Epicatequina^a</p>	Hipoglicemiante [29,30]
 <p>Acacetina^a</p>	Antiviral [31], antiproliferativa [32]
 <p>Isoliquiritigenina^a</p>	Antimicrobiana [33], antiinflamatória [34], antiproliferativa [35]

^a Vários flavonoides e chalconas são conhecidos por nomes que possuem relação com a planta na qual os compostos foram identificados pela primeira vez - a exemplo, quercetina, que foi isolada de *Quercus sp.*

1.3 Caracterização de biomoléculas por métodos computacionais

A dificuldade na síntese ou extração de produtos naturais complexos se constitui num fator limitante para a realização de vários ensaios experimentais na área de química medicinal. Em situações como esta, o auxílio de métodos computacionais torna-se valioso, uma vez que é possível explorar diversas propriedades de potenciais novos produtos farmacológicos a partir de sua modelagem [36,37]. A modelagem molecular abrange todos os métodos teóricos e técnicas computacionais usadas para mimetizar o comportamento de moléculas, sejam elas sistemas pequenos, como a maior parte dos casos de compostos não-proteicos de interesse farmacêutico, até grandes moléculas, como receptores biológicos.

Dentre as técnicas computacionais usadas para a caracterização de moléculas, estão os métodos baseados em mecânica quântica, que representam explicitamente os elétrons durante os cálculos, sendo possível derivar propriedades que dependem da distribuição eletrônica. A base destes métodos envolve a equação de Schrödinger em função do tempo, com diferentes abordagens para sua resolução [38]. Os métodos quânticos são capazes de descrever as propriedades de sistemas moleculares com grande acurácia, mas tem sua aplicação inviável para o estudo de grandes biomoléculas, já que isto demandaria um grande custo computacional [39].

Uma abordagem alternativa para o estudo de moléculas complexas é a dinâmica molecular (DM), que oferece informações sobre as sucessivas configurações de um determinado sistema através de uma trajetória gerada baseando-se nas equações de movimento de Newton. Nas simulações de DM, os átomos são tratados como partículas de massa específica (com um raio de van der Waals associado) que possuem ligações, ângulos e diedros tratados como molas e interações regidas por potenciais de Coulomb e Lennard-Jones [38]. O conjunto de parâmetros descrevendo as interações ligadas e não-ligadas que agem sobre os átomos do sistema é chamado de campo de força.

1.3.1 Campos de força

A maioria dos campos de força usa as mesmas funções para descrição das interações entre os átomos do sistema. Uma função que descreve a energia potencial total do sistema é a soma dos potenciais de ligação, angulares, torsionais, potenciais de Coulomb e de Lennard-Jones (Figura 5). Esses potenciais são calibrados para reproduzir dados de mecânica quântica e diferentes propriedades experimentais, dependendo da estratégia de parametrização do campo de força.

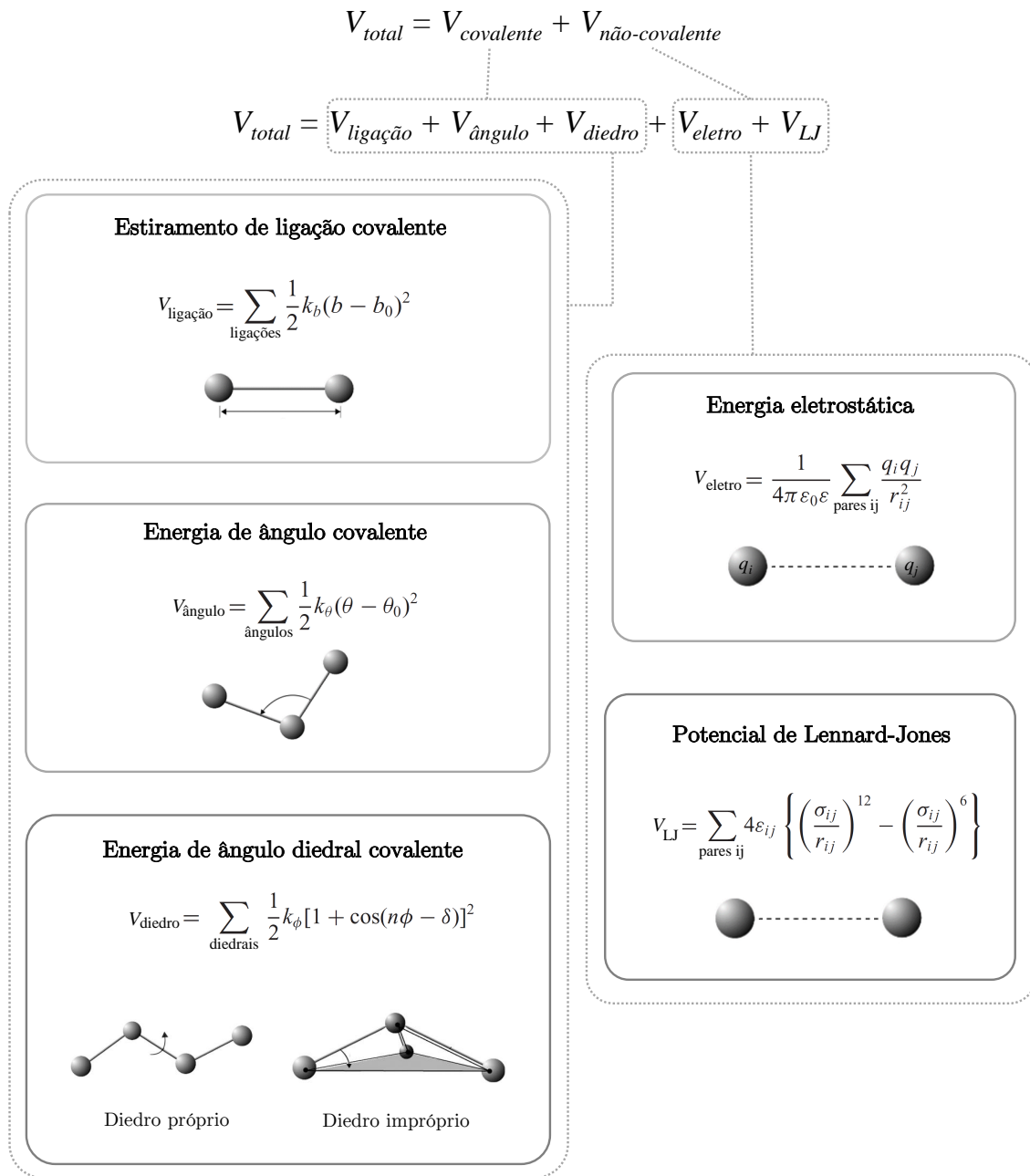


Figura 5 – Esquema da forma funcional de um campo de força. O termo de $\vartheta_{covalente}$ é composto pelo somatório dos termos $\vartheta_{ligação}$, $\vartheta_{\tilde{a}ngulo}$ e ϑ_{diedro} , enquanto o termo de $\vartheta_{n\tilde{a}o-covalente}$ é composto pelo somatório dos potenciais $\vartheta_{eletrostático}$ e $\vartheta_{Lennard-Jones}$ (adaptado de Serdyuk, Zaccai e Zaccai [40]).

Campos de força podem apresentar diferentes resoluções atomísticas, dividindo-se, de forma geral, em campos *all-atom*, *united-atom* e *coarse-grained*. Os campos *all-atom* consistem em uma descrição completa de todos os átomos presentes no sistema, enquanto campos *united-atom* apresentam alguns pseudoátomos, que consistem geralmente da fusão de átomos pesados com hidrogênios alifáticos. Os campos baseados em *coarse-graining* apresentam uma resolução atômica ainda menor, com fusão de grupamentos funcionais maiores. Um maior número de simplificações na representação atômica pode auxiliar na simulação de grandes biomoléculas, mas pode haver uma penalidade na acurácia de diversas análises [39].

Nas últimas décadas, uma variedade de campos de força para a simulação de biomoléculas foi desenvolvida. Exemplos típicos de campos de força baseados em fase condensada são AMBER [41], CHARMM [42], OPLS [43] e GROMOS [44]. Estes campos tem formas similares de funções de interação, mas variam consideravelmente nos valores dos parâmetros e na forma de parametrização. Os campos de força da série GROMOS são do tipo *united-atom*, e tratam os carbonos e hidrogênios alifáticos como pseudoátomos do tipo CH_3 (m.a. = 15.035 u), CH_2 (m.a. = 14.027 u) ou CH (m.a. = 13.019 u) e estes, por sua vez, possuem ajustes específicos para seus termos coulômbicos e de Lennard-Jones para descreverem suas propriedades químicas com a devida acurácia [45]. Essa abordagem, além de reduzir o custo computacional ao diminuir os graus de liberdade resolvidos pela mecânica molecular, também simplificam os descritores topológicos das moléculas, facilitando a transposição dos mesmos parâmetros para descreverem moléculas similares [44]. Vários estudos que envolvem a criação de parâmetros para o campo de força GROMOS usam propriedades termodinâmicas de líquidos (como entalpia de vaporização, densidade e entalpia de solvatação) como forma de validação [44, 46, 47]. Há também muitos casos avaliando a reprodução de dados provenientes de ressonância magnética nuclear (RMN), como contatos de NOE (*Nuclear Overhauser Effect*) [48, 49].

2 Justificativa

A utilização de métodos computacionais é uma importante abordagem na área de química medicinal para superação de limitações impostas por métodos experimentais tradicionais. As simulações de DM podem auxiliar no estudo de produtos naturais como as chalconas e flavonoides, mas a ausência de parâmetros validados para estas moléculas num campo de força de uso bem difundido como o GROMOS inviabiliza a realização de simulações e obtenção de dados acurados sobre o comportamento conformacional destas moléculas.

Um empenho para suprir esta falta de parâmetros é necessário, a fim de que se possa explorar o uso de um campo de força *united-atom* (que permite um certo ganho de performance computacional) no estudo de chalconas e flavonoides.

3 Objetivo

O objetivo deste trabalho é o desenvolvimento de parâmetros compatíveis com o campo de força GROMOS para a descrição conformacional de flavonoides e chalconas. Para tal, o projeto envolve os seguintes objetivos específicos:

- Geração de cargas atômicas para fragmentos contendo grupos funcionais comumente encontrados na estrutura de chalconas e flavonoides;
- Geração de novos perfis torsionais, baseados em dados quânticos, para diedros flexíveis existentes nos fragmentos escolhidos;
- Validação dos modelos através de simulações de suas propriedades físico-químicas em solução;
- Validação dos parâmetros a partir da montagem de moléculas completas e comparação com dados de RMN (sinais de NOE).

4 Metodologia

4.1 Estratégia de parametrização e escolha das moléculas de trabalho

Uma estratégia envolvendo "*building blocks*" foi usada para a geração dos parâmetros deste trabalho: várias pequenas moléculas, chamadas aqui de fragmentos, contendo grupos funcionais comumente presentes na estrutura de chalconas e flavonoides foram escolhidas para aplicação em diferentes protocolos. O critério principal de escolha destes fragmentos foi a disponibilidade de dados experimentais de certas propriedades termodinâmicas, necessárias para a validação de parâmetros em campos de força de fase condensada [44, 46, 49, 50]. O uso de moléculas menores também facilita a interpretação de perfis torsionais e a geração de cargas atômicas parciais a partir de métodos quânticos. Após a validação dos parâmetros usados para os fragmentos, chalconas e flavonoides completos foram montados com base nas topologias destas moléculas menores. As moléculas mais complexas, por sua vez, foram escolhidas com base na disponibilidade de dados de sinais de NOE (provenientes de experimentos de RMN), que serviram de referência experimental para comparação com o comportamento conformacional das moléculas durante simulações de DM.

4.2 Construção de topologias

As topologias das moléculas escolhidas foram construídas com base em alguns parâmetros (de ligação, angulares e de Lennard-Jones) já presentes no campo de força GROMOS53A6 [44]. Cargas atômicas parciais e potenciais torsionais foram gerados individualmente para os fragmentos de trabalho, baseados na reprodução de valores obtidos através de cálculos quânticos, como descrito nas próximas seções.

4.2.1 Obtenção de cargas atômicas parciais

Cargas atômicas parciais foram obtidas através de cálculos quânticos (QM) utilizando o método MP2 [51], conjunto de bases 6-31G* e solvente implícito *Polarizable Continuum Model* (PCM) [52], com o intuito de reproduzir a superfície do potencial eletrostático (ESP) [53]. A utilização direta do módulo das cargas atômicas parciais obtidas por ESP-MP2/6-31G* nos grupos de carga levou à uma superestimação dos

valores das propriedades estudadas nesse trabalho, então os erros absolutos na simulação das propriedades foram utilizados para guiar modificações. Esses ajustes manuais foram realizados levando em consideração a manutenção da direção e sentido do momento de dipolo, utilizando o *plugin* DipWatch do programa VMD [54] para comparação dos conjuntos de cargas obtidos pelos cálculos quânticos e os usados nas topologias para DM [55]. Os grupos de carga foram limitados, na maioria das vezes, aos átomos do grupo funcional de interesse e aos átomos de carbono adjacentes. Em alguns casos mais complexos, a sobreposição de dois grupos de carga foi necessária para a descrição correta do grupo químico. Em todos os outros casos de grupos de carga complexos, os átomos que se sobrepõem foram manualmente ajustados para a correta descrição do momento de dipolo obtido por métodos quânticos.

4.2.2 Obtenção de parâmetros torsionais

O perfil torsional quântico de cada novo diedro das moléculas parametrizadas nesse trabalho foi calculado utilizando o *software* Gaussian [56]. As estruturas das moléculas foram construídas no *software* Molden [57]. Após, a rotina *Scan* foi utilizada com critério de convergência *tight*, com otimização geométrica, iniciando o cálculo com o diedro orientado em 0° e utilizando passos de 30° até completar a rotação de 360° [55]. A energia total das conformações das moléculas foi calculada para cada orientação do diedro utilizando o método MP2 e base 6-31G*. Para a construção do perfil torsional mecânico, o *software* GROMACS versão 4.6.1 [58] foi utilizado, com avaliação da energia associada aos mesmos ângulos calculados por métodos quânticos. Ambos os perfis foram submetidos ao servidor RotProf [59] para a obtenção de parâmetros de mecânica clássica que melhor descrevem o perfil torsional quântico [60, 61].

4.3 Avaliação das propriedades termodinâmicas da fase condensada

Campos de força de fase condensada, como o GROMOS, requerem validação de propriedades das moléculas em fase líquida, de forma que os fragmentos escolhidos para validação foram simulados na forma de líquidos puros orgânicos. O protocolo usado foi baseado no descrito por Coleman *et al.* [62], utilizado em um trabalho de estabelecimento de *benchmarks* para campos de força comumente aplicados em simulações de DM e implementado previamente em nosso grupo de pesquisas [55]. Basicamente, o protocolo se constitui de simulações dos compostos orgânicos em fase líquida e gasosa, de forma a

extrair propriedades como densidade e entalpia de vaporização e realizar sua comparação com valores experimentais (Figura 6).

O pacote GROMACS versão 5.0.7 [63] foi utilizado em todas as simulações. Inicialmente, para construir as caixas de simulação dos líquidos orgânicos, uma caixa cúbica de 8 nm^3 foi criada contendo uma única molécula. Um total de 125 dessas caixas foram empilhadas, formando uma caixa de 1000 nm^3 , a qual foi simulada sob alta pressão (100 bar) para a indução das moléculas até a fase líquida. Após, o sistema foi simulado e equilibrado a 1 bar. Posteriormente, a caixa foi escalonada em $2 \times 2 \times 2$ para obtenção de uma caixa de 1000 moléculas em fase líquida e simulada a 1 bar e até o desvio total de energia total convergir para valores menores que $0,5 \text{ J}/(\text{mol} \times \text{ns} \times \text{GL})$, critério necessário para o cálculo acurado de propriedades flutuantes [62]. Todas simulações de equilibração foram feitas com algoritmo de acoplamento de Berendsen [64] por sua eficiência em relaxações moleculares. Quando disponíveis, valores experimentais de compressibilidade foram utilizados para simulação dos líquidos (do contrário, a compressibilidade da molécula orgânica mais similar disponível foi utilizada).

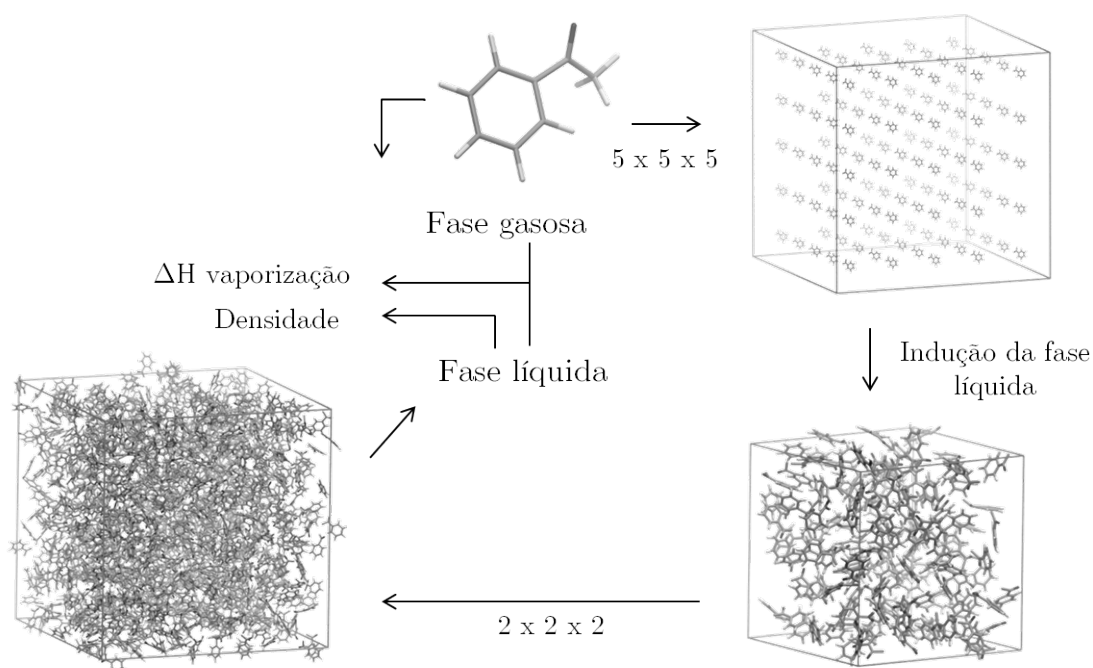


Figura 6 – Esquema representativo do protocolo de simulações para avaliação das propriedades termodinâmicas da fase condensada.

A etapa de produção da fase líquida foi calculada por 10 ns após a equilibração (já que as propriedades físico-químicas avaliadas nesse trabalho são de rápida convergência),

utilizando um tempo de integração de 2 fs e o integrador *leapfrog* [65]. O método PME [66] foi utilizado para descrever interações de Coulomb e Lennard-Jones com um *switching distance* de 1,1 nm para uma descrição mais acurada dos líquidos [67]. Para as simulações com pressão constante, o algoritmo de acoplamento Parrinello-Rahman [68] foi utilizado como barostato, utilizando uma constante de 5 ps. A temperatura das simulações foi escolhida de acordo com as temperaturas para as quais existem dados termodinâmicos experimentais disponíveis. Os *constraints* de ligações químicas foram mantidas utilizando o algoritmo LINCS [69]. Já simulações de fase gasosa foram realizadas com uma única molécula no vácuo por 100 ns utilizando o algoritmo LINCS e o integrador SD.

O cálculo da densidade ρ em uma simulação com pressão constante é dada pela massa do sistema M dividida pelo seu volume total V . Em nossas simulações, a densidade ρ foi calculada utilizando a média de 5 blocos de tempo de 2 ns cada.

$$\rho = \frac{M}{V} \quad (4.1)$$

A entalpia de vaporização ΔH_{vap} foi calculada à partir da equação:

$$\Delta H_{vap} = (E_{pot}(g) + k_B T) - E_{pot}(l) \quad (4.2)$$

de forma que $E_{pot}(g)$ é a energia potencial da fase gasosa, $E_{pot}(l)$ é a energia potencial da fase líquida, k_B é a constante de Boltzmann e T é a temperatura de obtenção das propriedades. As energias potenciais foram calculadas utilizando a média de 5 blocos ao longo da simulação, sendo 2 ns para cada bloco da fase líquida e 20 ns para a fase gasosa.

4.4 Avaliação conformacional de chalconas e flavonoides completos

Os parâmetros gerados foram aplicados na construção de compostos completos, que foram simulados para avaliação do seu comportamento conformacional. Foram escolhidos 3 flavonoides e 2 chalconas já caracterizados por RMN [70–73], com a descrição de vários contatos de NOE que poderiam ser usados como referência para comparação com as geometrias encontradas na DM (esta estratégia de comparação de NOEs e distâncias entre prótons durante as simulações já foi usada em outros trabalhos que envolvem a parametrização de moléculas para o campo de força GROMOS [50, 74, 75]).

4.4.1 Metadinâmica

Alguns eventos conformacionais ocorrem em escalas de tempo inacessíveis aos tempos computacionais disponíveis em simulações de DM convencionais. Métodos com amostragem ampliada, como a metadinâmica, permitem avaliar toda a superfície de energia livre do sistema, indicando quais são os estados conformacionais de maior estabilidade [76]. Esta técnica foi aplicada para determinação das conformações mais estáveis de chalconas e de flavonoides completos, como estruturas de partida para simulações de DM para avaliação de contatos de NOE. Estas simulações foram realizadas em solventes orgânicos (os mesmos da obtenção dos dados de RMN dos compostos, clorofórmio e DMSO) e água, à temperatura ambiente, durante 10 ns para a fase de produção. Os sistemas começaram sendo minimizados, utilizando o algoritmo de *steepest descent*, e seguiram para uma fase de equilíbrio de 1 ns. A metadinâmica foi realizada com os parâmetros de altura Gaussiana (h) no valor 0.1 e *width* (σ) igual a 0.5. A ferramenta *sum_hills* do pacote PLUMED [77] foi utilizada na cálculo de energia livre. Foram avaliadas as rotações dos diedros ϕ e ψ das ligações glicosídicas e a rotação dos diedros da estrutura básica de chalconas (sistema central α , β insaturado).

4.4.2 Comparação com dados de RMN

As conformações de menor energia de chalconas e flavonoides completos, derivadas das simulações de metadinâmica, foram simulados durante 500 ns para avaliação das distâncias de sinais de NOE. As moléculas foram simuladas em caixas cúbicas em solventes orgânicos (clorofórmio ou DMSO) e água, à temperatura ambiente, com condições gerais semelhantes às simulações de metadinâmica. Para possibilitar a comparação com os dados de RMN, átomos de hidrogênio apolares (normalmente não descritos em campos de força *united-atom*) foram adicionados a frames retirados da trajetória, a cada 10 ps, utilizando o programa Pymol [78]. A distância média entre os prótons foi calculada usando a ferramenta *g_mindist* do pacote GROMACS.

5 Resultados

Os resultados deste trabalho foram organizados na forma de um manuscrito, no modelo do *Journal of Chemical Theory and Computation*, que publica artigos originais reportando novas teorias, metodologias ou aplicações importantes envolvendo dinâmica molecular, métodos quânticos e mecânica estatística. O manuscrito preparado trata da criação e validação de parâmetros para simulação de chalconas e flavonoides no campo de força GROMOS, utilizando protocolos que envolvem a avaliação de propriedades termodinâmicas em líquidos orgânicos puros e avaliação do comportamento conformacional de compostos selecionados.

Parameter set for the simulation of flavonoids and chalcones in the GROMOS56A6 force field

Elisa B. O. John, Pablo R. Arantes, Marcelo D. Polêto, and Hugo Verli*

*Centro de Biotecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS,
Brazil*

E-mail: hverli@cbiot.ufrgs.br

Phone: +55 (51) 3308-7770. Fax: +55 (51) 3308-7309

Abstract

Chalcones and flavonoids constitute a large family of plant secondary metabolites that has been explored as a source of novel pharmaceutical products. Computational methods, such as molecular dynamics (MD), are valuable tools to assess conformational properties of the molecules and play an essential role in drug discovery. Considering the relevance of this family of molecules and the lack of validated parameters for their basic structure in the GROMOS force field, this work intends to provide a new parameter set for MD simulations of these compounds. We employed a protocol combining ab initio calculations and MD simulations, that obtained new torsional parameters and atomic charges. Experimental properties of organic liquids were used as comparison to the calculated values to validate the parameters. Additionally, metadynamics simulations were performed to evaluate the conformation of complex chalcones and flavonoids, and NOE contacts during simulations were measured. The employed protocol generated force

field parameters that reproduce well the target data and we expect they will contribute to more accurate computational studies on the biological role of such molecules.

Introduction

Plant natural products have been studied for many years until now as potential novel therapeutic agents.^{1,2} Among them, an interesting family of molecules are the flavonoids and chalcones, compounds that have two phenyl ring moiety associated to an heterocyclic ring (flavones) or to an α, β unsaturated system (chalcones) as structural features. With a great diversity of substituents in the rings, these compounds have been shown to present many biological activities, as cytotoxic,³⁻⁵ antioxidant,⁶ chemopreventive,⁷ antimicrobial⁸ or inhibitory effects against enzymes of medical relevance.^{9,10} Changes in their structure have been proven useful for the development of new therapeutic agents, thus these biomolecules are being intensively studied and modified.¹¹⁻¹³ Computational methods permeate all aspects of drug discovery today, rationalizing and facilitating the process.^{14,15} Molecular dynamics (MD) simulations can be used to complement experimental data^{16,17} and to provide detailed conformational distributions in time and space that experimental measurements can only obtain as averages.^{18,19} Reliable results from MD simulations are dependent to the quality of the empirical potential energy functions and the force field parameters used, thus a parameter set associated to a certain compound need to be carefully calibrated.

Efforts to develop compounds based on these natural products through rational design, however, are impaired by the absence of reliable parameters necessary for the simulation of these molecules, constituting a major drawback for structural-based strategies in medicinal chemistry. Considering the relevance of this family of molecules and the lack of validated parameters for the basic structure of chalcones and flavonoids in the GROMOS force field,²⁰ this work intends to provide a new parameter set for the simulation of these compounds. The present work is based on a united-atom force field, which significantly reduce the com-

putational costs, thus allowing faster simulations with longer time scales.²⁰ In this work, a protocol combining quantum mechanical (QM) calculations and MD simulations was employed to obtain new charge groups and torsional parameters, that were validated using experimental properties derived from the condensed phase of organic compounds. A fitting of molecular mechanical (MM) to quantum mechanical torsional profiles was performed for each of the dihedrals of interest in the structures, and has generated force field parameters that reproduce well the target data. Additionally, adjustments in charge groups were made in topologies used for the MD simulations and the obtained values of the thermodynamic properties are in good agreement with experimental data. The current work also aimed to characterize different complete chalcones and flavonoids in aqueous and nonaqueous solutions, in order to validate the new set of parameters using NMR data (NOE signals). The strategy employed in this work for conformational characterization of chalcones and flavonoids was previously described and validated against NMR data for other natural products.²¹⁻²³ The characterization of their solution conformational ensemble is a necessary step toward a deeper understanding of the determinants for compounds biological activity and, consequently, for a more efficient design of new bioactive compounds. We expect that such parameters will be able to properly describe the conformational distribution of chalcones and flavonoids, a starting point to further studies on the biological role of such molecules at an atomistic level of detail.

Results and discussion

Parametrization of partial atomic charges and torsional potentials

Several small molecules resembling the structure of chalcones, flavonoids and their substituents were selected to act as "building blocks" for the later assembly of complete compounds. These fragments (compounds **1-10** in Table 1) had their topologies constructed using bond, angle and improper-dihedral parameters retrieved directly from the GROMOS53A6²⁰ set, with new atomic charges and dihedral parameters being generated for each molecule. The charges obtained through ESP-MP2/6-31* were empirically rounded to fit into arbitrary defined charge groups, maintaining the molecular polarity, as observed in comparisons of dipole moments of the QM charges and charges used in MD simulations (Figure 1 Supp. Material).

The potential energy term associated with the torsion around dihedral angle m , is described by the following equation, where ϕ_m is the dihedral angle value, n_m is the multiplicity of the term, δ_m the associated phase shift, and $k_{\phi,m}$ the corresponding force constant:

$$V_{\phi,m} = k_{\phi,m}[1 + \cos\delta_m \cos(n_m\phi_m)] \quad (1)$$

We evaluated how GROMOS53A6 force field dihedral parameters behave in the description of torsional profiles of the fragments (Figure 1). The original parameters fail to reproduce the QM profile in MM calculations for most of the fragments, and this result exemplifies a drawback in using automated topology builders²⁴ in the simulations of these compounds, as the builders only will use the original force field set to construct the MD input files. To address this issue, new dihedral parameters potentials were generated (Table 1) and tested. The curves obtained using the new torsional parameters show good agreement with the respective values obtained by the QM calculations.

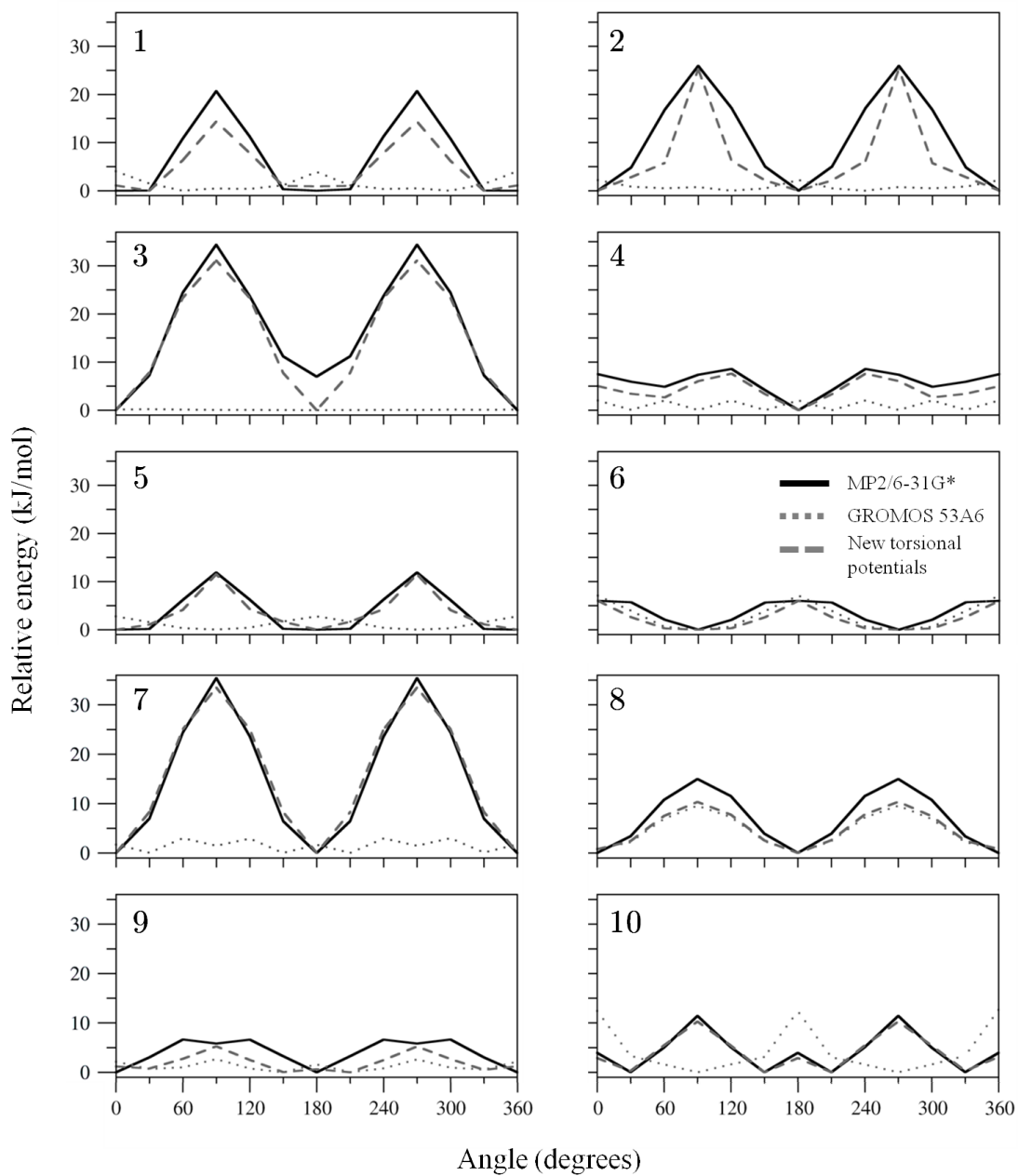
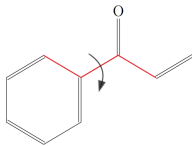
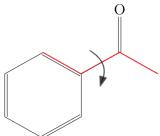
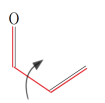
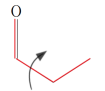
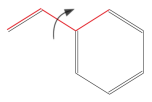
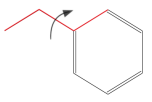
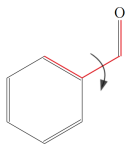
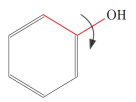
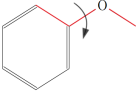
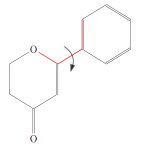


Figure 1: Comparison of MM to QM torsional profiles of the structures. The fitting has generated parameters that reproduce well the QM potential energy in the MM calculations.

Table 1: Torsional parameters obtained based on QM calculations

Compound	Dihedral	δ	$k_{\phi,m}$	n
1 (Acrylophenone)		0	8.92	0
		0	-11.76	2
2 (Acetophenone)		0	12.05	0
		0	-13.26	2
3 (Propenal)		0	16.38	0
		0	-15.54	2
4 (Propanal)		0	2.01	0
		0	-1.76	2
		0	2.48	3
5 (Ethenylbenzene)		0	5.09	0
		0	-7.11	2
6 (Etylbenzene)		0	9.99	0
		0	9.99	2
7 (Benzaldehyde)		0	15.11	0
		0	-15.85	2
8 (Phenol)		0	3.23	0
		0	-3.10	2
9 (Methoxybenzene)		0	3.74	0
		0	-3.35	2
10 (6-phenyl-2,3-dihydropyran-4-one)		0	4.08	0
		0	-3.66	2

Assessment of thermodynamic properties in MD simulations

Pure liquid simulations were performed in order to validate the parameters used in topologies for the compounds. This strategy of validation using the comparison to experimental thermodynamic properties of condensed-phase (ρ and ΔH_{vap}) was employed in other works involving the parametrization of molecules in GROMOS force field^{21,25-27} and for the establishment of force field benchmarks.²⁸ Invidually, most of the parametrized molecules obtained values that are in concordance with experimental data (Table 2), with just one major outlier (compound **3**).

Table 2: Obtained values for thermodynamic properties in the simulated systems

Compound	Temp. [K]	Exp. ρ [g/cm^3]	Calc. ρ [g/cm^3]	Error	Exp. ΔH_{vap} [kJ/mol]	Calc. ΔH_{vap} [kJ/mol]	Error
2	298.0 ²⁹	1.02 ³⁰	1.03	1.0%	53.4 ²⁹	53.5	0.3%
3	293.0 ²⁹	0.84 ³⁰	0.86	2.6%	31.9 ²⁹	22.9	28.0%
4	298.15 ²⁹	0.79 ³⁰	0.80	1.2%	29.6 ²⁹	26.4	10.6%
5	298.15 ²⁹	0.87 ³⁰	0.90	3.2%	43.9 ²⁹	39.2	10.8%
6	298.15 ²⁹	0.86 ³⁰	0.88	2.8%	42.2 ²⁹	43.8	3.8%
7	298.15 ²⁹	1.04 ³⁰	1.04	0.3%	39.6 ²⁹	45.9	15.9%
8	318.15 ²⁹	1.05 ³⁰	1.07	2.3%	56.3 ²⁹	60.9	8.3%
9	298.15 ²⁹	0.99 ³⁰	1.01	2.7%	45.0 ²⁹	48.5	8.6%

Structural assessment

In order to evaluate the conformational profile of complete flavonoids and chalcones constructed with the generated parameters, metadynamics simulations were performed and free energy landscapes for the dihedral angles on the structures were produced. For compounds **11–13**, two main minima were identified in the simulations (Figure 2), with minor influence of the different solvents on the free energy profiles. The conformation of the main structure of flavonoids is influenced by its substituents, as seen in the energy profile of compound **13**, which has voluminous sugar moieties and has obtained a different energy profile, comparing with compounds **11** and **12**. This influence of the substituents was further investigated in chalcones (compounds **14** and **15**), where the addition of different groups on the external rings modifies the free energy landscape for the dihedrals adjacent to the carbonyl group (Figure 3), obtaining two main minimum conformations instead of one, like in the control compound. The free energy profiles associated to the sugar moieties of compounds **13** and **15** (Figure 2 Supp. Material) also suffered minor influence of the different solvents, obtaining similar minimum conformations.

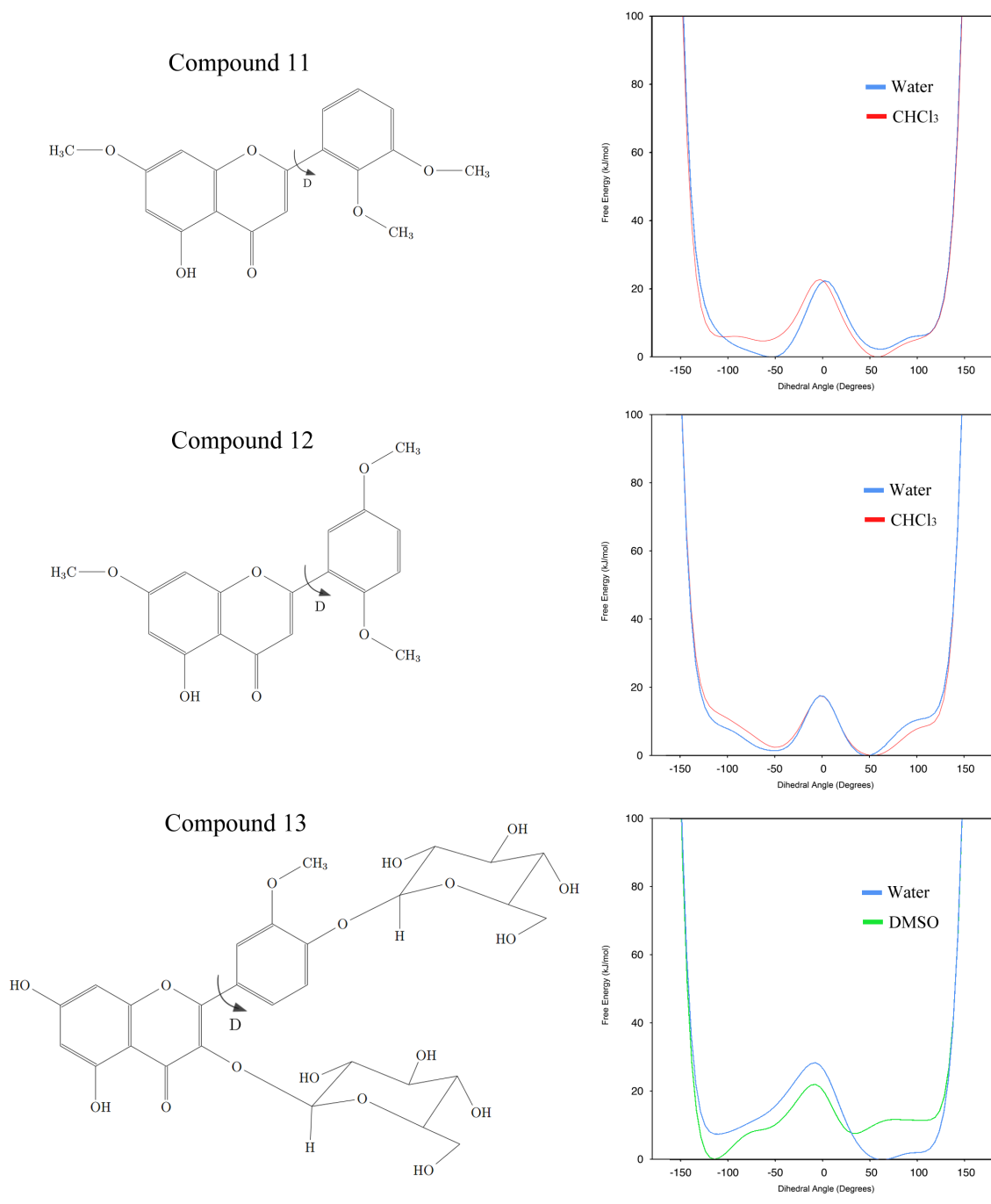


Figure 2: Free energy profiles obtained from metadynamics simulations for the linkage on main structure of flavonoids for different compounds.

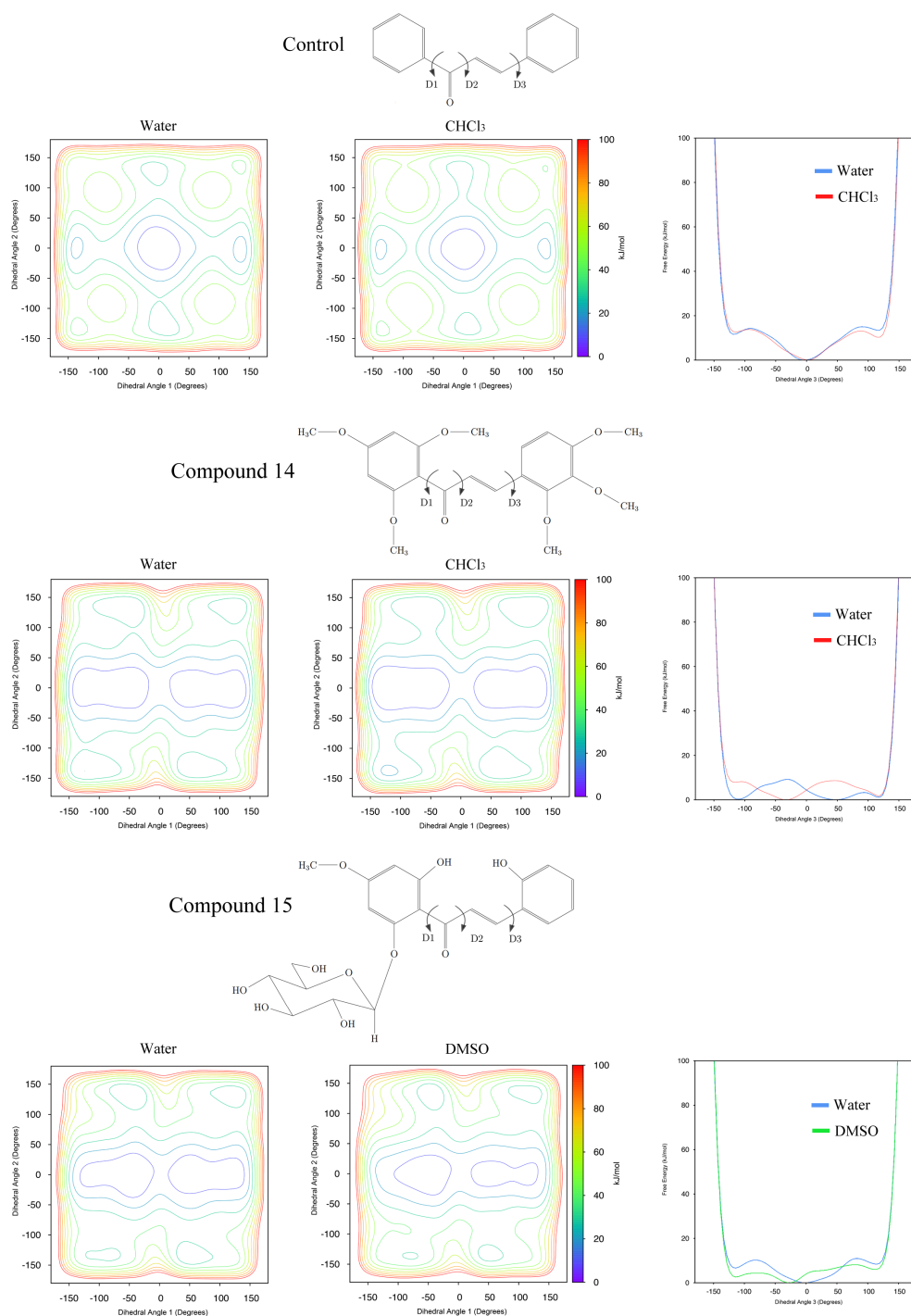
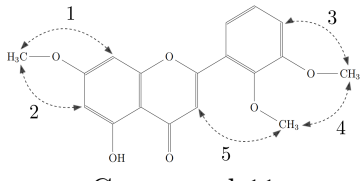
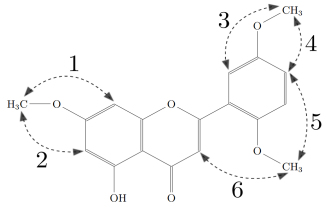
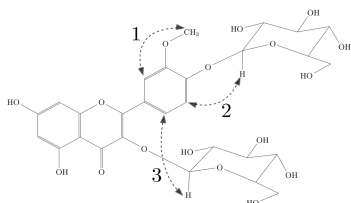
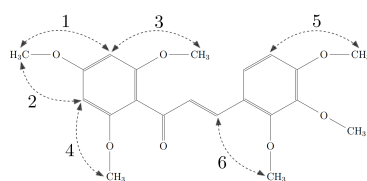
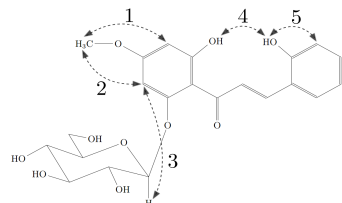


Figure 3: Free energy profiles obtained from metadynamics simulations for the linkages on the main structure of chalcones for different compounds.

Considering that compounds **11–15** have been previously characterized by NMR spectroscopy,^{31–34} the inter-proton contacts (NOE signals) were used to validate the conformational ensemble obtained from MD simulations. The absolute minimum conformations obtained in the metadynamics simulations on organic solvents were used as initial conformations for MD. Whenever a distance value was below a 5 Å cutoff, it was considered as a correct reproduction. As a general feature, most of the experimentally observed contacts between the analyzed protons were properly reproduced in the simulations using organic solvents (Table 3) and water (Table 1 in Supp. Material), pointing to a precise conformational characterization of these compounds on the performed MD simulations. One major deviation was observed for one of the contacts in compound **15**, that may be related to a higher flexibility associated to the main chalcone scaffold.

The conformational profile of the compounds is connected to the behavior of its main linkages. To evaluate the distribution of conformations adopted by the molecules in MD, a description of the most populated geometries was performed (Figures 4, 5). For most of the compounds, there were no significant differences in distributions of geometries in aqueous and in organic solvents. The results were also in concordance with the data provided by metadynamics simulations, with similar amounts of peaks in distributions and minimum conformations on free energy profiles. The chalcone structure has proven to be very flexible around the dihedral between the external ring and the carbonyl group ("D1"), as the geometry distribution demonstrated the population of many conformational states in the simulations (Figure 5).

Table 3: NOE contacts of compounds and inter-proton distances derived from MD simulations

 <p>Compound 11</p>		 <p>Compound 12</p>		 <p>Compound 13</p>	
NOE	Av. Distance (Å)	NOE	Av. Distance (Å)	NOE	Av. distance (Å)
1	3.63 ± 0.59	1	3.64 ± 0.58	1	3.35 ± 0.61
2	3.49 ± 0.62	2	3.49 ± 0.61	2	3.24 ± 0.72
3	3.37 ± 0.61	3	3.56 ± 0.60	3	4.89 ± 0.52
4	4.77 ± 0.74	4	3.56 ± 0.59		
5	4.67 ± 0.95	5	5.31 ± 0.61		
		6	5.13 ± 0.90		
 <p>Compound 14</p>		 <p>Compound 15</p>			
NOE	Av. Distance (Å)	NOE	Av. Distance (Å)		
1	3.56 ± 0.59	1	3.54 ± 0.59		
2	3.55 ± 0.60	2	3.55 ± 0.60		
3	3.32 ± 0.60	3	2.83 ± 0.54		
4	3.34 ± 0.60	4	7.68 ± 0.97		
5	3.38 ± 0.62	5	2.63 ± 0.47		
6	3.46 ± 0.62				

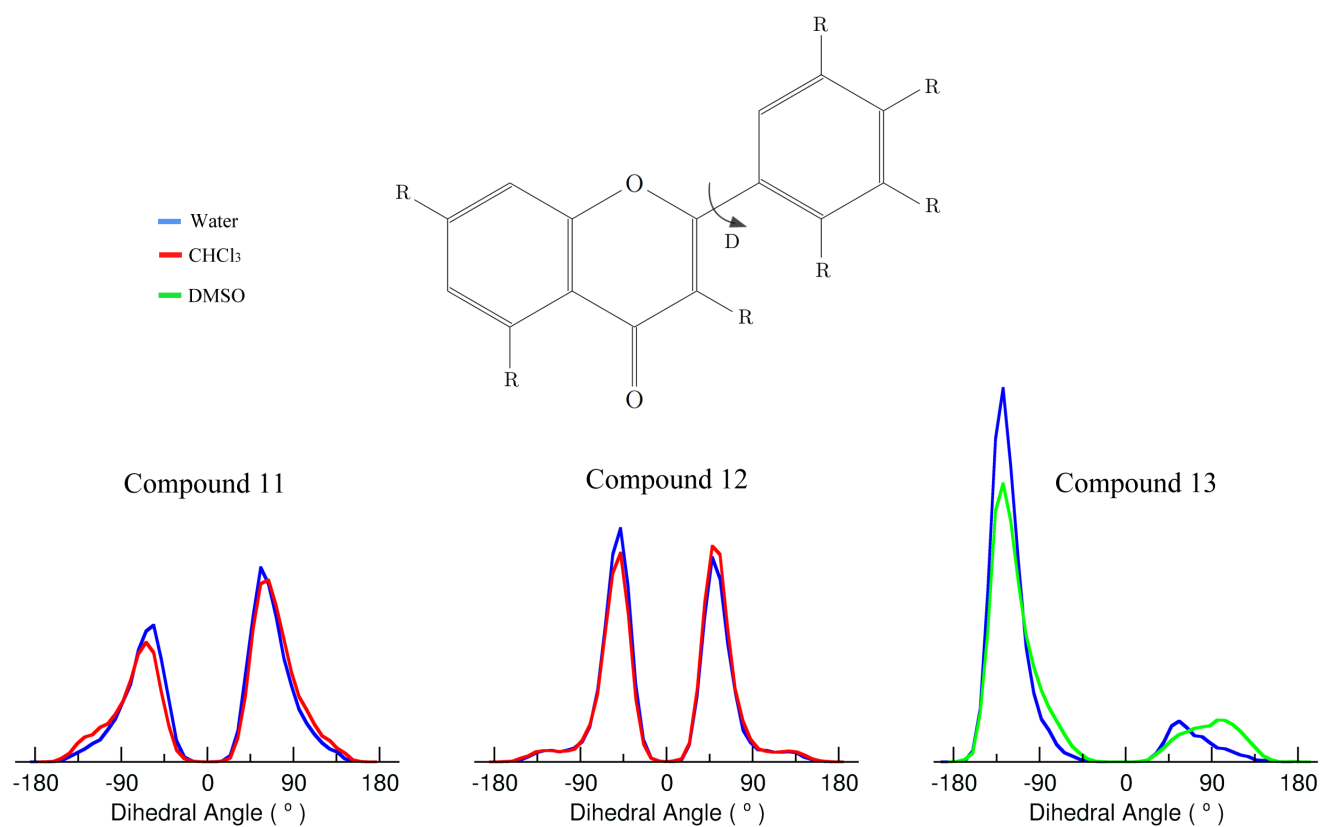


Figure 4: Distribution of the dihedral angles associated with the linkage between the rings on flavonoid structure in MD simulations.

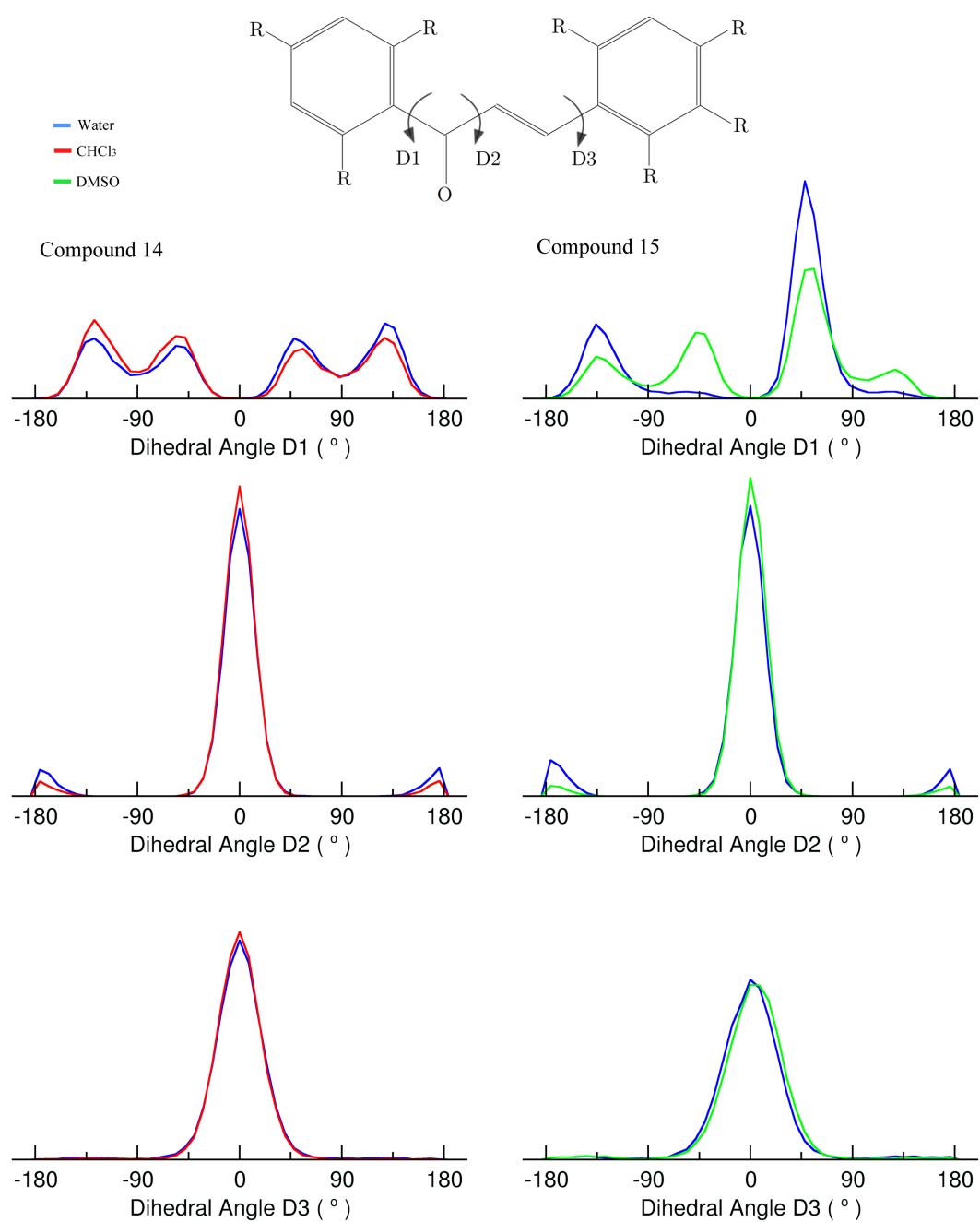


Figure 5: Distribution of the dihedral angles within the main chalcone structure in MD simulations.

Conclusions

The generated parameters for the description of small molecules (that would be used as basis for the simulation of chalcones and flavonoids) reproduce well QM and experimental data, as observed after the employment of different validation protocols. The MD simulation of complete chalcones and flavonoids provided the assessment of their behavior in solution and allowed the identification of most flexible dihedrals in the compounds. The reproduction of interproton NOE contacts during MD simulations in organic solvents suggests a precise conformational characterization of these molecules. This set of parameters is expected to contribute in future studies on these compounds, supplying accurate results through MD simulations.

Experimental

Parametrization strategy and topology construction

A set of organic molecules resembling the structure of chalcones and flavonoids was selected to act as "building blocks" and was submitted to a protocol for comparison of calculated properties during MD simulations to experimental data. Topologies were constructed for these fragments based on the parameters already present in the GROMOS53A6²⁰ force field, with refinements in atomic charges and torsional potentials. For the obtention of ESP atomic charges,³⁵ QM calculations were performed using Gaussian03,³⁶ at the second-order Møller-Plesset perturbation (MP2)³⁷ level with the 6-31G* basis set, in implicit PCM (polarizable continuum model) solvent.³⁸ Some adjustments were made in the charge values, in order to create transferable and simpler charge groups that maintain the polarity of the molecules, based on dipole moment comparison. Dipole moments of charges obtained in QM calculations and the charges used for MD simulations were compared through the *DipWatch* plugin of VMD program.³⁹ All the input structures were built using Molden.⁴⁰ All of the MD

simulations and analyses were performed using the GROMACS simulation suite,⁴¹ versions 4.6.1⁴² and 5.0.7.⁴³

Obtention of new torsional parameters

The QM torsional profiles of dihedrals of interest within the structures were obtained using Gaussian03.³⁶ These QM calculations were carried out using the *scan* routine combined with the convergence criterion *tight*, at the second-order Møller-Plesset perturbation (MP2) level with the 6-31G* basis set, obtaining the relative energy associated with the rotation of each dihedral by increments of 30°. Analogue MM calculations were performed in GROMACS 4.6.1, using the force field parameter set 53A6, as described elsewhere.^{44,45} The QM and MM profiles were fitted by a cosine series in Rotational Profiler tool,⁴⁶ which allowed to determine the required torsional parameters for each proper dihedral, and the new parameters were implemented in the topologies for MD simulations.

Liquid and gas-phase simulations for assessment of thermodynamic properties

Thermodynamic properties of organic liquids (density and enthalpy of vaporization) were used to validate our topologies, based on other works of parametrization of small biomolecules^{21,47} and validation of force fields.²⁸ The protocol described in Coleman *et al.*²⁸ was applied to all fragments containing functional groups necessary to the assembly of complex chalcones and flavonoids (these fragments were chosen considering the disponibility of experimental values of density and enthalpy of vaporization), and the topologies were accepted as useful when the percent error between experimental values and simulated properties was below 15%. Essentially, the protocol consisted of simulations of the fragments in gas-phase (1 molecule) and in liquid-phase (1000 molecules), where, subsequently, the potential energy associated with the systems ($E_{pot}(g)$ for gas-phase and $E_{pot}(l)$ for liquid-phase) was extracted and used to

calculate (Eq. 2) the enthalpy of vaporization (ΔH_{vap}) of the fragments.

$$\Delta H_{vap} = (E_{pot}(g) + k_B T) - E_{pot}(l) \quad (2)$$

MD simulations were carried out by means of the GROMACS 5.0.7 package, and all the analyses employed dedicated tools from the GROMACS package, associated with in-house scripts to calculate thermodynamic properties.

Metadynamics simulations

For the structural assessment of complete chalcones and flavonoids, metadynamics simulations were performed in order to determine the conformational preferences of dihedral angles in the main scaffold of these compounds and the associated carbohydrate moieties. Several fragments containing the dihedrals of interest were constructed and simulated during 10 ns, at room temperature and in nonaqueous solvents (chloroform or DMSO, to reproduce the conditions of the NMR experiments concerning the chosen complete chalcones and flavonoids) and water, as a control, in cubic boxes using periodic boundary conditions. The systems were submitted to energy minimization by steepest Descents algorithm, followed by an equilibration phase of 2 ns and subsequently to MD simulations. Pressure was kept constant at 1 atm by a Parrinello-Rahman barostat,^{48,49} with a 2.0 ps coupling constant, and temperature was kept constant by a V-rescale thermostat (NVT step), with a coupling constant of $\tau = 0.1$. The Lincs method⁵⁰ was applied to constrain covalent bond lengths, allowing an integration step of 2 fs. For the systems solvated with DMSO, all bond lengths were constrained using the SHAKE algorithm.^{51,52} The particle mesh Ewald method⁵³ was applied in the calculation of electrostatic interactions. The GROMACS 4.6.1 interfaced with the PLUMED plugin package 1.2.2⁵⁴ was used. As for the free energy surfaces, the *sum hills* tool from PLUMED package was applied.

NOE contacts assessment in MD simulations

Each minimum energy conformation obtained from the metadynamics of the complete chalcones and flavonoids was submitted to MD simulations in nonaqueous solvents (chloroform or DMSO) and water. The MD conditions were generally the same of the metadynamics calculations, with longer equilibration (20 ns) and production phases (500 ns). To allow a comparison of the simulations to H-NMR data (NOE signals) of the compounds, nonpolar hydrogens atoms were added to frames retrieved from trajectories, using Pymol.⁵⁵ The obtained models were used to calculate the average interproton distances from simulations, using the *g_mindist* tool from GROMACS.

Acknowledgement

This research received funding by the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq); the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES); and the Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS). Research supported by the Centro Nacional de Supercomputação of the Universidade Federal do Rio Grande do Sul (CESUP/UFRGS).

Supporting Information Available

The following files are available free of charge.

- Supplementary material: Dipole moments of charge sets used in the topologies for the fragments, conformational data regarding the sugar moieties in complete compounds, inter-proton distances of the compounds simulated in water.

This material is available free of charge via the Internet at <http://pubs.acs.org/>.

References

- (1) Harvey, A. L. *Drug Discovery Today* **2008**, *13*, 894–901.
- (2) Cragg, G. M.; Newman, D. J. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects* **2013**, *1830*, 3670–3695.
- (3) Yang, Z.; Wu, W.; Wang, J.; Liu, L.; Li, L.; Yang, J.; Wang, G.; Cao, D.; Zhang, R.; Tang, M. *Journal of medicinal chemistry* **2014**, *57*, 7977–7989.
- (4) Stoll, R. et al. *Biochemistry* **2001**, *40*, 336–344.
- (5) Wang, H. M.; Zhang, L.; Liu, J.; Yang, Z. L.; Zhao, H. Y.; Yang, Y.; Shen, D.; Lu, K.; Fan, Z. C.; Yao, Q. W.; Zhang, Y. M.; Teng, Y. O.; Peng, Y. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2015**, *92*, 439–448.
- (6) Duarte, J.; Pérez-Palencia, R.; Vargas, F.; Ocete, M. a.; Pérez-Vizcaino, F.; Zarzuelo, A.; Tamargo, J. *British journal of pharmacology* **2001**, *133*, 117–124.
- (7) Seufi, A. M.; Ibrahim, S. S.; Elmaghraby, T. K.; Hafez, E. E. *Journal of experimental & clinical cancer research : CR* **2009**, *28*, 80.
- (8) López, S. N.; Castelli, M. V.; Zacchino, S. a.; Domínguez, J. N.; Lobo, G.; Charris-Charris, J.; Cortés, J. C.; Ribas, J. C.; Devia, C.; Rodríguez, a. M.; Enriz, R. D. *Bioorganic & medicinal chemistry* **2001**, *9*, 1999–2013.
- (9) Liu, H.-r.; Liu, X.-j.; Fan, H.-q.; Tang, J.-j.; Gao, X.-h.; Liu, W.-K. *Bioorganic & medicinal chemistry* **2014**, *22*, 6124–33.
- (10) Niu, Y.; Zhu, H.; Liu, J.; Fan, H.; Sun, L.; Lu, W.; Liu, X.; Li, L. *Chemico-Biological Interactions* **2011**, *189*, 161–166.
- (11) Santos-Buelga, C.; Escribano-Bailon, M. T.; Lattanzio, V. *Recent Advances in Polyphe-nol Research*; 2010; Vol. 2; pp 1–332.

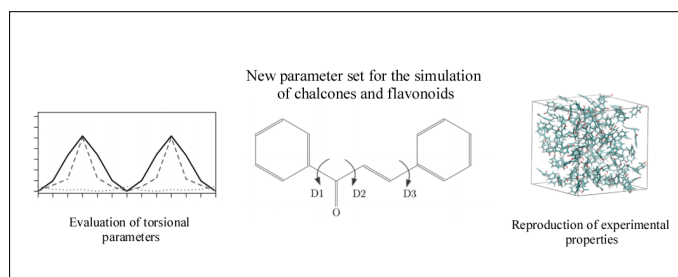
- (12) Singh, P.; Anand, A.; Kumar, V. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2014**, *85*, 758–777.
- (13) Cazarolli, L. H.; Zanatta, L.; Alberton, E. H.; Figueiredo, M. S. R. B.; Folador, P.; Damazio, R. G.; Pizzolatti, M. G.; Silva, F. R. M. B. *Mini reviews in medicinal chemistry* **2008**, *8*, 1429–1440.
- (14) Jorgensen, W. L. *Science (New York, N.Y.)* **2004**, *303*, 1813–8.
- (15) Sliwoski, G.; Kothiwale, S.; Meiler, J.; Lowe, E. W. *Pharmacological reviews* **2014**, *66*, 334–95.
- (16) Durrant, J. D.; McCammon, J. A. *BMC biology* **2011**, *9*, 71.
- (17) De Vivo, M.; Masetti, M.; Bottegoni, G.; Cavalli, A. *Role of Molecular Dynamics and Related Methods in Drug Discovery*. 2016.
- (18) Van Gunsteren, W. F. et al. *Biomolecular modeling: Goals, problems, perspectives*. 2006.
- (19) Cunha, R.; Soares, T.; Husu, V.; Pontes, F.; Franca, E.; Lins, R. *The Complex World of Polysaccharides*; InTech, 2012; Chapter 9, pp 229–256.
- (20) Oostenbrink, C.; Villa, A.; Mark, A. E.; Van Gunsteren, W. F. *Journal of Computational Chemistry* **2004**, *25*, 1656–1676.
- (21) Pedebos, C.; Pol-Fachin, L.; Verli, H. *Journal of Natural Products* **2012**, *75*, 1196–1200.
- (22) Pol-Fachin, L.; Serrato, R. V.; Verli, H. *Carbohydrate Research* **2010**, *345*, 1922–1931.
- (23) Arantes, P. R.; Sachett, L. G.; Graebin, C. S.; Verli, H. *Molecules* **2014**, *19*, 5421–5433.
- (24) Lemkul, J. A.; Allen, W. J.; Bevan, D. R. *Journal of Chemical Information and Modeling* **2010**, *50*, 2221–2235.

- (25) Micaelo, N. M.; Baptists, A. M.; Soares, C. M. *Journal of Physical Chemistry B* **2006**, *110*, 14444–14451.
- (26) Horta, B. A. C.; Fuchs, P. F. J.; Van Gunsteren, W. F.; Hünenberger, P. H. *Journal of Chemical Theory and Computation* **2011**, *7*, 1016–1031.
- (27) Horta, B. A. C.; Merz, P. T.; Fuchs, P. F. J.; Dolenc, J.; Riniker, S.; Hünenberger, P. H. *Journal of Chemical Theory and Computation* **2016**, *12*, 3825–3850.
- (28) Caleman, C.; van Maaren, P. J.; Hong, M.; Hub, J. S.; Costa, L. T.; van der Spoel, D. *Journal of chemical theory and computation* **2012**, *8*, 61–74.
- (29) Chickos, J. S.; Acree, W. E. *Journal of Physical and Chemical Reference Data* **2003**, *32*, 519–878.
- (30) Haynes, W. *Handbook of Chemistry and Physics*; 2014; Vol. 54; p 2704.
- (31) Koteswara Rao, Y.; Vimalamma, G.; Venkata Rao, C.; Tzeng, Y. M. *Phytochemistry* **2004**, *65*, 2317–2321.
- (32) Reddy, M. K.; Reddy, M. V. B.; Reddy, B. A. K.; Gunasekar, D.; Caux, C.; Bodo, B. *Chemical and pharmaceutical bulletin* **2003**, *51*, 854–856.
- (33) Nørbæk, R.; Nielsen, J. K.; Kondo, T. *Phytochemistry* **1999**, *51*, 1139–1146.
- (34) Jayaprakasam, B.; Gunasekar, D.; Rao, K. V.; Blond, a.; Bodo, B. *Journal of Asian Natural Products Research* **2001**, *3*, 43–48.
- (35) Bayly, C.; Cieplak, P.; Cornell, W.; Kollman, P. *The Journal of Physical Chemistry* **1993**, 10269–10280.
- (36) Frisch, M. J. et al. Gaussian 03 Revision A.01.
- (37) Head-Gordon, M.; Pople, J. A.; Frisch, M. J. *Chemical Physics Letters* **1988**, *153*, 503–506.

- (38) Mennucci, B.; Tomasi, J. *The Journal of Chemical Physics* **1997**, *106*, 5151.
- (39) Humphrey, W.; Dalke, A.; Schulten, K. *Journal of Molecular Graphics* **1996**, *14*, 33–38.
- (40) Schaftenaar, G.; Noordik, J. H. *Journal of Computer-Aided Molecular Design* **2000**, *14*, 123–134.
- (41) Van Der Spoel, D.; Lindahl, E.; Hess, B.; Groenhof, G.; Mark, A. E.; Berendsen, H. J. C. GROMACS: Fast, flexible, and free. 2005.
- (42) Hess, B.; Kutzner, C.; Van Der Spoel, D.; Lindahl, E. *Journal of Chemical Theory and Computation* **2008**, *4*, 435–447.
- (43) Abraham, M. J.; Murtola, T.; Schulz, R.; Páll, S.; Smith, J. C.; Hess, B.; Lindahl, E. *SoftwareX* **2015**, *1-2*, 19–25.
- (44) Pol-Fachin, L.; Rusu, V. H.; Verli, H.; Lins, R. D. *Journal of Chemical Theory and Computation* **2012**, *8*, 4681–4690.
- (45) Pol-Fachin, L.; Verli, H.; Lins, R. D. *Journal of computational chemistry* **2014**, *35*, 2087–2095.
- (46) Rotational Profiler. <http://dqfnet.ufpe.br/biomat/rotprof/>, Last accessed on 2016-12-10.
- (47) Figueira, F.; Farinha, A. S. F.; Muteto, P. V.; Polêto, M. D.; Verli, H.; Gomes, M. T. S. R.; Tomé, A. C.; Cavaleiro, J. A. S.; Tomé, J. P. C. *Chem. Commun.* **2016**, *52*, 2181–2184.
- (48) Parrinello, M.; Rahman, A. *J. Appl. Phys.* **1981**, *52*, 7182.
- (49) Nosé, S.; Klein, M. L. *Mol. Phys.* **1983**, *50*, 1055–1076.
- (50) Hess, B.; Bekker, H.; Berendsen, H. J. C.; Fraaije, J. G. E. M. *Journal of Computational Chemistry* **1997**, *18*, 1463–1472.

-
- (51) Ryckaert, J. P.; Ciccotti, G.; Berendsen, H. J. C. *Journal of Computational Physics* **1977**, *23*, 327–341.
- (52) Geerke, D. P.; van Gunsteren, W. F. *ChemPhysChem* **2006**, *7*, 671–678.
- (53) Darden, T.; York, D.; Pedersen, L. *The Journal of Chemical Physics* **1993**, *98*, 10089.
- (54) Bonomi, M.; Branduardi, D.; Bussi, G.; Camilloni, C.; Provasi, D.; Raiteri, P.; Donadio, D.; Marinelli, F.; Pietrucci, F.; Broglia, R. A.; Parrinello, M. *Computer Physics Communications* **2009**, *180*, 1961–1972.
- (55) DeLano, W. *CCP4 Newsletter On Protein Crystallography* **2002**, *700*.

Graphical TOC Entry



Parameter set for the simulation of flavonoids and chalcones in the GROMOS56A6 force field

Elisa B. O. John, Pablo R. Arantes, Marcelo D. Poletto, and Hugo Verli*

*Centro de Biotecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS,
Brazil*

E-mail: hverli@cbiot.ufrgs.br

Supporting Information

List of Figures

1	Representation of dipole moment of the fragments, as derived from ESP charges (red arrows) and the proposed MM charges (gray arrows).	2
2	Free energy profiles obtained from metadynamics simulations for the glycosidic linkages on different compounds.	3
3	Distribution of geometries of the glycosidic linkages during MD simulations .	5

List of Tables

1	NOE contacts of compounds and inter-proton distances derived from MD simulations performed in water	4
---	---	---

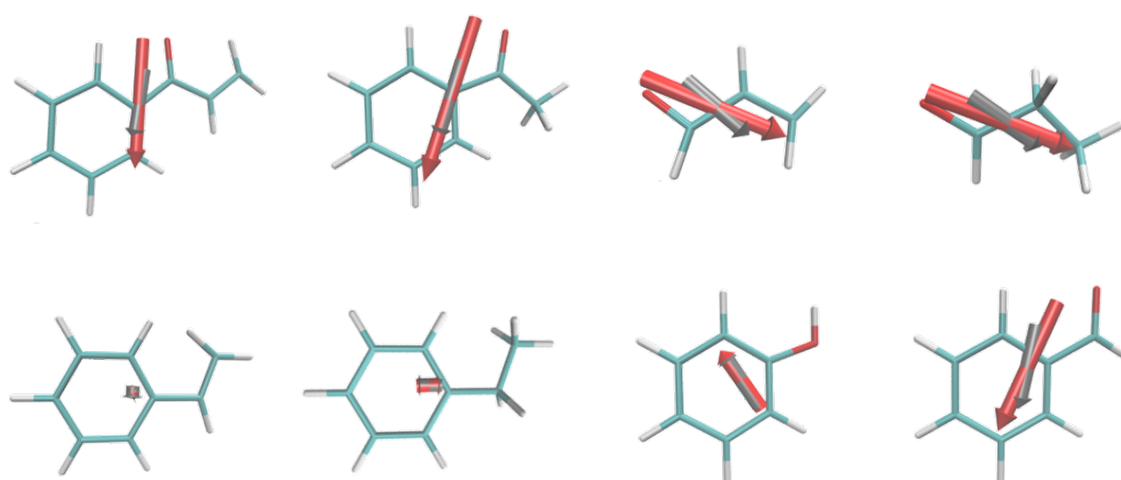


Figure 1: Representation of dipole moment of the fragments, as derived from ESP charges (red arrows) and the proposed MM charges (gray arrows).

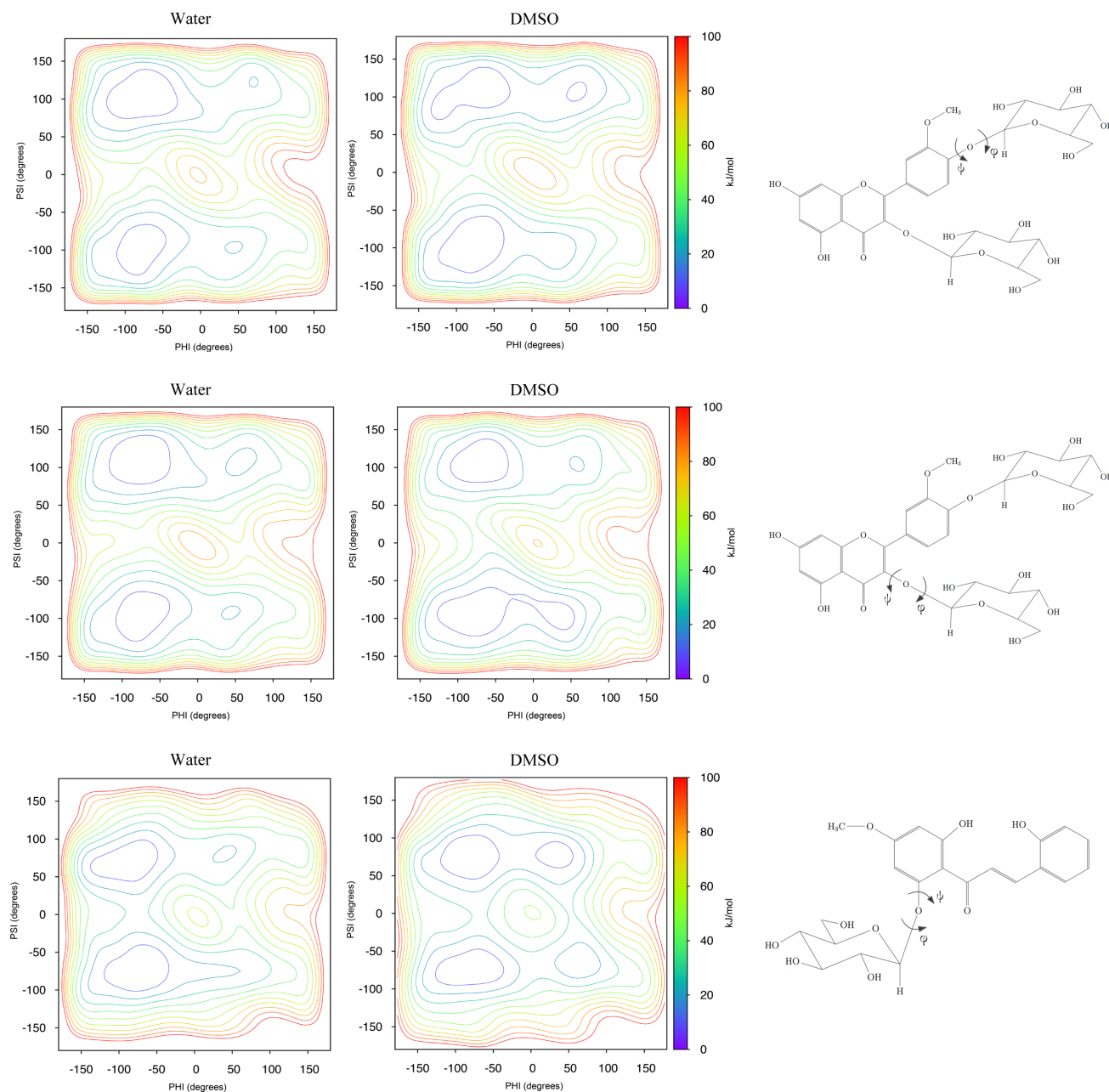


Figure 2: Free energy profiles obtained from metadynamics simulations for the glycosidic linkages on different compounds.

Table 1: NOE contacts of compounds and inter-proton distances derived from MD simulations performed in water

Compound 11		Compound 12		Compound 13	
NOE	Av. Distance (Å)	NOE	Av. Distance (Å)	NOE	Av. distance (Å)
1	3.50 ± 0.60	1	3.50 ± 0.60	1	3.30 ± 0.60
2	3.50 ± 0.60	2	3.50 ± 0.60	2	3.00 ± 0.70
3	3.30 ± 0.60	3	3.50 ± 0.60	3	4.80 ± 0.40
4	4.70 ± 0.90	4	3.50 ± 0.60		
5	4.50 ± 0.90	5	5.30 ± 0.60		
		6	5.10 ± 0.90		

Compound 14		Compound 15	
NOE	Av. Distance (Å)	NOE	Av. Distance (Å)
1	3.50 ± 0.60	1	3.50 ± 0.60
2	3.50 ± 0.60	2	3.50 ± 0.60
3	3.30 ± 0.60	3	2.50 ± 0.20
4	3.30 ± 0.60	4	7.40 ± 1.20
5	3.30 ± 0.60	5	2.70 ± 0.50
6	3.50 ± 0.60		

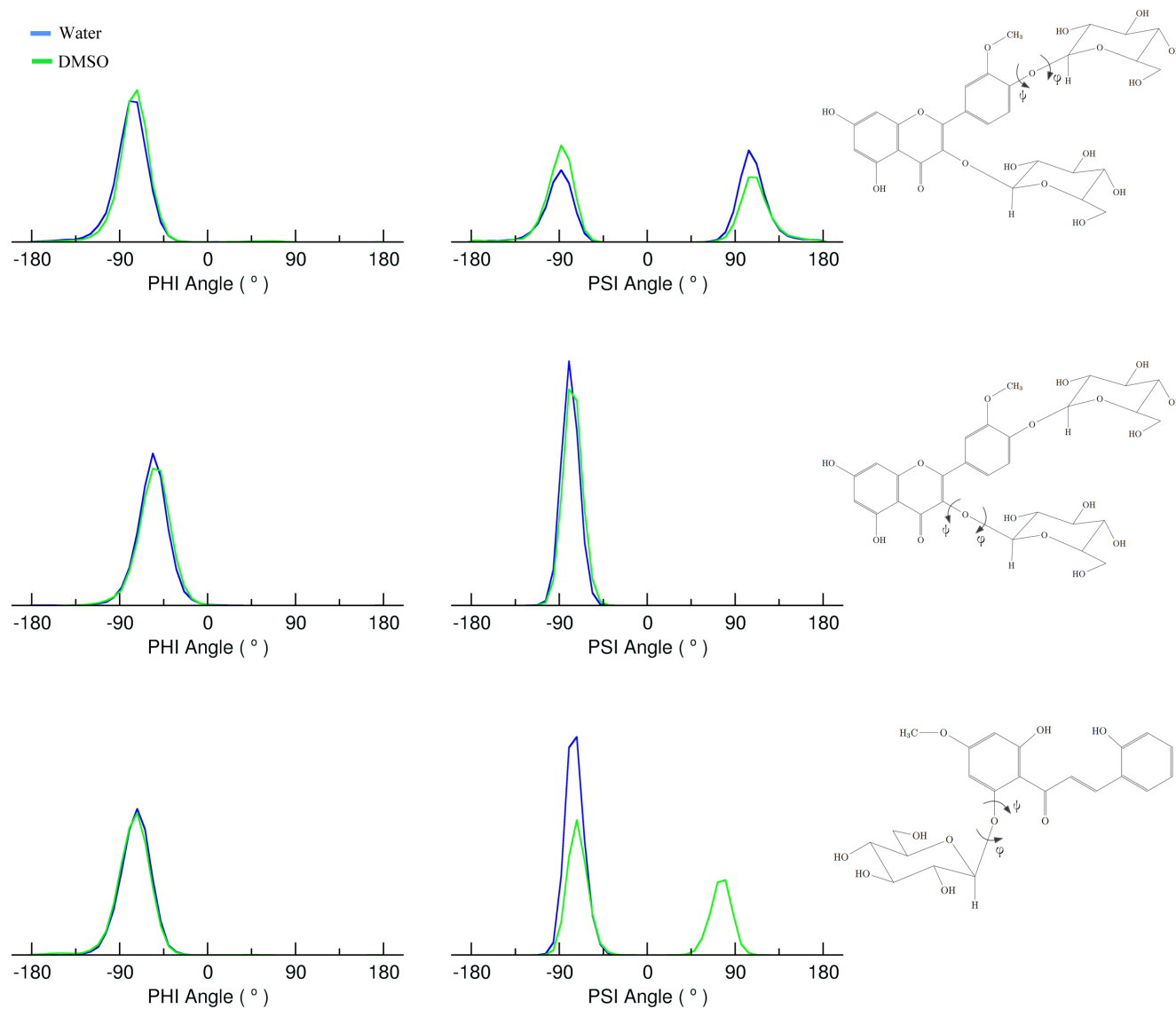


Figure 3: Distribution of geometries of the glycosidic linkages during MD simulations

6 Discussão

O intuito desse trabalho foi a criação de parâmetros para descrição conformacional de chalconas e flavonoides. Antes da montagem de moléculas completas, um conjunto de moléculas menores, com propriedades físico-químicas conhecidas foi selecionado para aplicação em protocolos de validação baseados em outros trabalhos da literatura, que envolviam tanto a parametrização de pequenas moléculas para o campo de força GROMOS [50, 55] quanto a avaliação de performance de diferentes campos de força [62].

Desta forma, vários fragmentos foram satisfatoriamente parametrizados, utilizando novas cargas atômicas parciais e novos potenciais torsionais. Para formação dos grupos de carga, uma estratégia envolvendo observação de direção e sentido dos momentos de dipolo foi aplicada [55], com objetivo da manutenção da polaridade das moléculas através da comparação dos conjuntos de cargas obtidos por métodos quânticos e dos conjuntos que seriam usados para as simulações. Como foi observado, uma boa concordância entre os momentos de dipolo obtidos por QM e os usados na DM resulta em uma reprodução satisfatória das propriedades termodinâmicas dos líquidos orgânicos. Um dos compostos selecionados (propenal) não atingiu um valor satisfatório para uma das propriedades avaliadas, ΔH_{vap} , necessitando ainda de ajustes em cargas ou no assinalamento dos tipos de átomos na topologia.

Uma análise da performance dos parâmetros torsionais já presentes no campo de força GROMOS53A6 revelou que os potenciais disponíveis são inadequados para a descrição do comportamento dos diedros presentes nas moléculas de trabalho (e, conseqüentemente, para a descrição do perfil torsional de chalconas e flavonoides), uma vez que as curvas de energia obtidas por QM não foram reproduzidas pelos resultados das simulações. Resultados como este representam uma desvantagem no uso direto de conjuntos de parâmetros que não foram calibrados para moléculas semelhantes às moléculas de interesse. O conjunto de parâmetros 53A6 foi validado inicialmente com o intuito de aplicação dos parâmetros na simulação de proteínas [44, 49], mas tem sido usado em diversos trabalhos que envolvem também a simulação de outros tipos de pequenas moléculas [79–82] (utilizando construtores automáticos para a geração de topologias), o que pode gerar resultados não confiáveis. Para garantir uma descrição conformacional mais adequada de chalconas e flavonoides, novos parâmetros torsionais foram gerados e testados, obtendo bons resultados nos modelos analisados.

Dados provenientes de RMN podem ser usados como comparação para o com-

portamento conformacional de biomoléculas [48, 49]. A estratégia usada neste trabalho é semelhante à usada em outros estudos envolvendo a parametrização de compostos naturais [50, 74, 75], e se baseia na medida de distâncias entre prótons específicos, durante a DM, que correspondem a sinais de NOE identificados durante experimentos. Algumas chalconas e flavonoides completos foram escolhidos, baseado na disponibilidade de dados de NOE [70–73], e tiveram suas topologias construídas com base nos parâmetros usados para as simulações anteriores de pequenos fragmentos, obedecendo a uma ideia de transferibilidade. As conformações iniciais destes compostos para a DM foram geradas a partir dos resultados de metadinâmica, técnica que permite uma amostragem ampliada de conformações e identifica geometrias de menor energia para as estruturas. Na metadinâmica, vários diedros dos compostos exibiram mais de uma região de geometria de baixa energia, mas somente os mínimos absolutos (ângulos em que a energia livre tende a zero) foram escolhidos, fazendo que apenas um confômero de menor energia de cada composto fosse simulado. A análise das simulações de DM revelou uma reprodução satisfatória dos contatos de NOE, com praticamente todas as distâncias medidas ficando na faixa de 5 Å. A população de geometrias durante a DM também foi analisada, e se obteve uma concordância entre as conformações mais frequentes dos diedros na DM e as posições de mínima energia identificadas na metadinâmica.

7 Conclusões

O presente trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de parâmetros para simulações de chalconas e flavonoides, que representem com acurácia suas propriedades termodinâmicas e conformacionais no campo de força GROMOS. A partir dos resultados expostos, pode-se concluir que:

- Novos grupos de carga foram gerados para os grupos funcionais presentes em chalconas e flavonoides, em uma estratégia baseada na comparação de dipolos, que se mostrou bastante eficiente;
- A geração de novos potenciais torsionais baseados em dados de QM permitiu o estabelecimento de parâmetros acurados para descrição conformacional das moléculas orgânicas;
- As topologias construídas para os fragmentos tem boa reprodução de propriedades termodinâmicas, como visto na aplicação do protocolo de validação usando simulação de líquidos;
- Os parâmetros construídos parecem descrever bem o comportamento conformacional de compostos completos, como visto nas simulações para medidas de contatos de NOE.

8 Perspectivas

O desenvolvimento do presente trabalho abre outras perspectivas dentro do campo de desenvolvimento de parâmetros e do estudo de produtos naturais, tais como:

- Expandir os protocolos de validação e implementar a avaliação de outras propriedades da fase condensada (como energia de solvatação), para a uma parametrização de qualidade de compostos relacionados;
- Utilização dos parâmetros gerados para a simulação de chalconas e flavonoides com o objetivo de investigar fenômenos biológicos, como a interação com proteínas.

Referências

- 1 SHEN, B. A New Golden Age of Natural Products Drug Discovery. *Cell*, v. 6, n. 163, p. 1297–1300, 2015. Citado na página 14,
- 2 HARVEY, A. L. Natural products in drug discovery. *Drug Discovery Today*, v. 13, n. 19-20, p. 894–901, 2008. ISSN 13596446. Citado na página 14,
- 3 LAM, K. S. New aspects of natural products in drug discovery. *Trends in Microbiology*, v. 15, n. 6, p. 279–289, 2007. ISSN 0966842X. Citado na página 14,
- 4 GANESAN, A. The impact of natural products upon modern drug discovery. *Current Opinion in Chemical Biology*, v. 12, n. 3, p. 306–317, 2008. ISSN 13675931. Citado na página 14,
- 5 NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. *Journal of Natural Products*, American Chemical Society, v. 79, n. 3, p. 629–661, 2016. Citado na página 14,
- 6 SPRINGOB, K.; KUTCHAN, T. M. Introduction to the different classes of natural products. In: *Plant-derived Natural Products: Synthesis, Function, and Application*. [S.l.: s.n.], 2009. p. 3–50. ISBN 9780387854984. Citado na página 15,
- 7 NIJVELDT, R. J. et al. Flavonoids : a review of probable mechanism of action and potential applications. *The American journal of clinical nutrition*, v. 74, n. 4, p. 418–425, 2001. ISSN 0002-9165. Citado na página 15,
- 8 WINKEL-SHIRLEY, B. Flavonoid biosynthesis. a colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. *Plant physiology*, Am Soc Plant Biol, v. 126, n. 2, p. 485–493, 2001. Citado 2 vezes nas páginas 15 e 17,
- 9 STAFFORD, H. A. Roles of flavonoids in symbiotic and defense functions in legume roots. *The Botanical Review*, Springer, v. 63, n. 1, p. 27–39, 1997. Citado na página 15,
- 10 POURCEL, L. et al. Flavonoid oxidation in plants: from biochemical properties to physiological functions. *Trends in plant science*, Elsevier, v. 12, n. 1, p. 29–36, 2007. Citado na página 15,
- 11 SASAKI, K.; TAKAHASHI, T. A flavonoid from brassica rapa flower as the uv-absorbing nectar guide. *Phytochemistry*, Elsevier, v. 61, n. 3, p. 339–343, 2002. Citado na página 15,
- 12 BROWN, D. E. et al. Flavonoids act as negative regulators of auxin transport in vivo in arabidopsis. *Plant physiology*, Am Soc Plant Biol, v. 126, n. 2, p. 524–535, 2001. Citado na página 15,
- 13 FERRIOLA, P. C.; CODY, V.; MIDDLETON, E. Protein kinase c inhibition by plant flavonoids: kinetic mechanisms and structure-activity relationships. *Biochemical pharmacology*, Elsevier, v. 38, n. 10, p. 1617–1624, 1989. Citado na página 15,

- 14 SCHUBERT, S. Y.; LANSKY, E. P.; NEEMAN, I. Antioxidant and eicosanoid enzyme inhibition properties of pomegranate seed oil and fermented juice flavonoids. *Journal of ethnopharmacology*, Elsevier, v. 66, n. 1, p. 11–17, 1999. Citado na página 15,
- 15 WONG, E. The role of chalcones and flavanones in flavonoid biosynthesis. *Phytochemistry*, Elsevier, v. 7, n. 10, p. 1751–1758, 1968. Citado na página 15,
- 16 KNEKT, P. et al. Flavonoid intake and risk of chronic diseases. *The American journal of clinical nutrition*, Am Soc Nutrition, v. 76, n. 3, p. 560–568, 2002. Citado na página 15,
- 17 RUSZNYAK, S.; SZENT-GYÖRGYI, A. Vitamin p: flavonols as vitamins. *Nature*, v. 138, p. 27, 1936. Citado na página 15,
- 18 PIETTA, P.-G. Flavonoids as antioxidants. *Journal of natural products*, ACS Publications, v. 63, n. 7, p. 1035–1042, 2000. Citado na página 15,
- 19 BEECHER, G. R. Overview of dietary flavonoids: nomenclature, occurrence and intake. *The Journal of nutrition*, Am Soc Nutrition, v. 133, n. 10, p. 3248S–3254S, 2003. Citado na página 15,
- 20 CAZAROLLI, L. H. et al. Flavonoids: prospective drug candidates. *Mini reviews in medicinal chemistry*, v. 8, n. 13, p. 1429–1440, 2008. ISSN 13895575. Citado na página 17,
- 21 GUARDIA, T. et al. Anti-inflammatory properties of plant flavonoids. Effects of rutin, quercetin and hesperidin on adjuvant arthritis in rat. *Farmaco*, v. 56, n. 9, p. 683–687, 2001. ISSN 0014827X. Citado na página 19,
- 22 CHOI, E. J.; BAE, S. M.; AHN, W. S. Antiproliferative effects of quercetin through cell cycle arrest and apoptosis in human breast cancer MDA-MB-453 cells. *Archives of Pharmacal Research*, v. 31, n. 10, p. 1281–1285, 2008. ISSN 02536269. Citado na página 19,
- 23 HUBBARD, G. P. et al. Ingestion of quercetin inhibits platelet aggregation and essential components of the collagen-stimulated platelet activation pathway in humans. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, v. 2, n. 12, p. 2138–2145, 2004. ISSN 15387933. Citado na página 19,
- 24 JOHARI, J. et al. Antiviral activity of baicalein and quercetin against the Japanese encephalitis virus. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 13, n. 12, p. 16020–16045, 2012. ISSN 16616596. Citado na página 19,
- 25 MELZIG, M. F.; HENKE, K. Inhibition of thrombin activity by selected natural products in comparison to neutrophil elastase. *Planta Medica*, v. 71, n. 8, p. 787–789, 2005. ISSN 00320943. Citado na página 19,
- 26 KIM, N. Y. et al. Butein, a plant polyphenol, induces apoptosis concomitant with increased caspase-3 activity, decreased Bcl-2 expression and increased Bax expression in HL-60 cells. *Pharmacol Toxicol*, v. 88, n. 5, p. 261–266, 2001. ISSN 0901-9928. Citado na página 19,

- 27 MOON, D. O. et al. Butein suppresses c-Myc-dependent transcription and Akt-dependent phosphorylation of hTERT in human leukemia cells. *Cancer Letters*, v. 286, n. 2, p. 172–179, 2009. ISSN 03043835. Citado na página 19,
- 28 KIL, J. S. et al. Okanin, a chalcone found in the genus *Bidens*, and 3-penten-2-one inhibit inducible nitric oxide synthase expression via heme oxygenase-1 induction in RAW264.7 macrophages activated with lipopolysaccharide. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, v. 50, n. 1, p. 53–58, 2012. ISSN 09120009. Citado na página 19,
- 29 RIZVI, S. I.; ZAID, M. A. Insulin-like effect of (-)epicatechin on erythrocyte membrane acetylcholinesterase activity in type 2 diabetes mellitus. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, v. 28, n. 9, p. 776–778, 2001. Citado na página 19,
- 30 SI, H. et al. Dietary epicatechin promotes survival of obese diabetic mice and *Drosophila melanogaster*. *The Journal of nutrition*, v. 141, n. 6, p. 1095–1100, 2011. ISSN 1541-6100. Citado na página 19,
- 31 HU, C. Q. et al. Anti-AIDS agents, 10. Acacetin-7-O-beta-D-galactopyranoside, an anti- HIV principle from *Chrysanthemum morifolium* and a structure-activity correlation with some related flavonoids. *Journal of Natural Products*, v. 57, n. 1, p. 42–51, 1994. ISSN 01633864. Citado na página 19,
- 32 SINGH, R. P. et al. Acacetin inhibits cell growth and cell cycle progression, and induces apoptosis in human prostate cancer cells: Structure-activity relationship with linarin and linarin acetate. *Carcinogenesis*, v. 26, n. 4, p. 845–854, 2005. ISSN 01433334. Citado na página 19,
- 33 FELDMAN, M.; SANTOS, J.; GRENIER, D. Comparative evaluation of two structurally related flavonoids, isoliquiritigenin and liquiritigenin, for their oral infection therapeutic potential. *Journal of Natural Products*, v. 74, n. 9, p. 1862–1867, 2011. ISSN 01633864. Citado na página 19,
- 34 TAKAHASHI, T. et al. Isoliquiritigenin, a flavonoid from licorice, reduces prostaglandin E2 and nitric oxide, causes apoptosis, and suppresses aberrant crypt foci development. *Cancer Science*, v. 95, n. 5, p. 448–453, 2004. ISSN 13479032. Citado na página 19,
- 35 KANAZAWA, M. et al. Isoliquiritigenin inhibits the growth of prostate cancer. *European Urology*, v. 43, n. 5, p. 580–586, 2003. ISSN 03022838. Citado na página 19,
- 36 JORGENSEN, W. L. The many roles of computation in drug discovery. *Science (New York, N.Y.)*, v. 303, n. 5665, p. 1813–8, 2004. ISSN 1095-9203. Citado na página 20,
- 37 SLIWOSKI, G. et al. Computational methods in drug discovery. *Pharmacological reviews*, v. 66, n. 1, p. 334–95, 2014. ISSN 1521-0081. Citado na página 20,
- 38 LEACH, A. R. *Molecular modelling : principles and applications*. [S.l.]: Longman, 1996. 595 p. ISBN 9780582239333. Citado na página 20,

- 39 TOZZINI, V. Multiscale Modeling of Proteins. *Accounts of Chemical Research*, American Chemical Society, v. 43, n. 2, p. 220–230, feb 2010. ISSN 0001-4842. Citado 2 vezes nas páginas 20 e 22,
- 40 SERDYUK, I. N.; ZACCAI, N. R.; ZACCAI, J. *Methods in Molecular Biophysics - Structure, Dynamics, Function*. [S.l.: s.n.], 2007. ISBN 9780511276118. Citado na página 21,
- 41 CORNELL, W. D. et al. A Second Generation Force Field for the Simulation of Proteins, Nucleic Acids, and Organic Molecules. *Journal of the American Chemical Society*, American Chemical Society, v. 117, n. 19, p. 5179–5197, may 1995. ISSN 0002-7863. Citado na página 22,
- 42 MACKERELL, A. D. et al. All-Atom Empirical Potential for Molecular Modeling and Dynamics Studies of Proteins. *The Journal of Physical Chemistry B*, American Chemical Society, v. 102, n. 18, p. 3586–3616, apr 1998. ISSN 1520-6106. Citado na página 22,
- 43 JORGENSEN, W. L.; MAXWELL, D. S.; TIRADO-RIVES, J. Development and Testing of the OPLS All-Atom Force Field on Conformational Energetics and Properties of Organic Liquids. *Journal of the American Chemical Society*, American Chemical Society, v. 118, n. 45, p. 11225–11236, jan 1996. ISSN 0002-7863. Citado na página 22,
- 44 OOSTENBRINK, C. et al. A biomolecular force field based on the free enthalpy of hydration and solvation: the GROMOS force-field parameter sets 53A5 and 53A6. *Journal of computational chemistry*, v. 25, n. 13, p. 1656–76, oct 2004. ISSN 0192-8651. Citado 3 vezes nas páginas 22, 25 e 60,
- 45 W. F. van Gunsteren; BERENDSEN, H. J. C. Groningen Molecular Simulation (GROMOS) Library Manual. *Bimos, Groningen, The Netherlands*, p. 1–221, 1987. Citado na página 22,
- 46 HORTA, B. A. C. et al. New Interaction Parameters for Oxygen Compounds in the GROMOS Force Field: Improved Pure-Liquid and Solvation Properties for Alcohols, Ethers, Aldehydes, Ketones, Carboxylic Acids, and Esters. *Journal of Chemical Theory and Computation*, American Chemical Society, v. 7, n. 4, p. 1016–1031, 2011. ISSN 1549-9618. Citado 2 vezes nas páginas 22 e 25,
- 47 HORTA, B. A. C. et al. A GROMOS-Compatible Force Field for Small Organic Molecules in the Condensed Phase: The 2016H66 Parameter Set. *Journal of Chemical Theory and Computation*, American Chemical Society, v. 12, n. 8, p. 3825–3850, 2016. ISSN 1549-9618. Citado na página 22,
- 48 SOARES, T. A. et al. Validation of the GROMOS force-field parameter set 45A3 against nuclear magnetic resonance data of hen egg lysozyme. *Journal of Biomolecular NMR*, v. 30, n. 4, p. 407–422, 2004. ISSN 09252738. Citado 2 vezes nas páginas 22 e 61,
- 49 OOSTENBRINK, C. et al. Validation of the 53A6 GROMOS force field. *European Biophysics Journal*, Springer-Verlag, v. 34, n. 4, p. 273–284, jun 2005. ISSN 0175-7571. Citado 4 vezes nas páginas 22, 25, 60 e 61,

- 50 PEDEBOS, C.; POL-FACHIN, L.; VERLI, H. Unrestrained conformational characterization of stenocereus eruca saponins in aqueous and nonaqueous solvents. *Journal of Natural Products*, v. 75, n. 6, p. 1196–1200, 2012. Citado 4 vezes nas páginas 25, 28, 60 e 61,
- 51 HEAD-GORDON, M.; POPLE, J. A.; FRISCH, M. J. MP2 energy evaluation by direct methods. *Chemical Physics Letters*, North-Holland, v. 153, n. 6, p. 503–506, dec 1988. ISSN 00092614. Citado na página 25,
- 52 MENNUCCI, B.; TOMASI, J. Continuum solvation models: A new approach to the problem of solute's charge distribution and cavity boundaries. *The Journal of Chemical Physics*, AIP Publishing, v. 106, n. 12, p. 5151, 1997. ISSN 00219606. Citado na página 25,
- 53 BAYLY, C. I. et al. A well-behaved electrostatic potential based method using charge restraints for deriving atomic charges: the RESP model. *The Journal of Physical Chemistry*, American Chemical Society, v. 97, n. 40, p. 10269–10280, oct 1993. ISSN 0022-3654. Citado na página 25,
- 54 HUMPHREY, W.; DALKE, A.; SCHULTEN, K. VMD: Visual molecular dynamics. *Journal of Molecular Graphics*, v. 14, n. 1, p. 33–38, 1996. Citado na página 26,
- 55 POLETO, M. D. *Parametrização de anéis aromáticos comumente usados no desenvolvimento de fármacos e química medicinal*. Dissertação (Mestrado) — Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil, 2016. Citado 2 vezes nas páginas 26 e 60,
- 56 FRISCH, M. J. et al. *Gaussian 03 Revision A.01*. Citado na página 26,
- 57 SCHAFTENAAR, G.; NOORDIK, J. H. Molden: A pre- and post-processing program for molecular and electronic structures. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, v. 14, n. 2, p. 123–134, 2000. Citado na página 26,
- 58 HESS, B. P-LINCS: A Parallel Linear Constraint Solver for Molecular Simulation. *Journal of Chemical Theory and Computation*, American Chemical Society, v. 4, n. 1, p. 116–122, 2008. ISSN 1549-9618. Citado na página 26,
- 59 LINS, R. D. *Biomat - Rotational Profiler*. Disponível em: <<http://dqfnet.ufpe.br/biomat/rotprof/>>. Citado na página 26,
- 60 POL-FACHIN, L. et al. GROMOS 53A6 GLYC , an Improved GROMOS Force Field for Hexopyranose-Based Carbohydrates. *Journal of Chemical Theory and Computation*, American Chemical Society, v. 8, n. 11, p. 4681–4690, nov 2012. ISSN 1549-9618. Citado na página 26,
- 61 POL-FACHIN, L.; VERLI, H.; LINS, R. D. Extension and validation of the GROMOS 53A6(GLYC) parameter set for glycoproteins. *Journal of computational chemistry*, v. 35, n. 29, p. 2087–95, nov 2014. ISSN 1096-987X. Citado na página 26,

- 62 CALEMAN, C. et al. Force Field Benchmark of Organic Liquids: Density, Enthalpy of Vaporization, Heat Capacities, Surface Tension, Isothermal Compressibility, Volumetric Expansion Coefficient, and Dielectric Constant. *Journal of chemical theory and computation*, v. 8, n. 1, p. 61–74, jan 2012. ISSN 1549-9626. Citado 3 vezes nas páginas 26, 27 e 60,
- 63 ABRAHAM, M. J. et al. GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers. *SoftwareX*, v. 1, p. 19–25, 2015. ISSN 23527110. Citado na página 27,
- 64 BERENDSEN, H. J. C. et al. Molecular dynamics with coupling to an external bath. *The Journal of Chemical Physics*, AIP Publishing, v. 81, n. 8, p. 3684, 1984. ISSN 00219606. Citado na página 27,
- 65 GUNSTEREN, W. F. van; BERENDSEN, H. J. C. Computer Simulation of Molecular Dynamics: Methodology, Applications, and Perspectives in Chemistry. *Angewandte Chemie International Edition in English*, Hüthig & Wepf Verlag, v. 29, n. 9, p. 992–1023, sep 1990. ISSN 0570-0833. Citado na página 28,
- 66 ESSMANN, U. et al. A smooth particle mesh Ewald method. *The Journal of Chemical Physics*, AIP Publishing, v. 103, n. 19, p. 8577, 1995. ISSN 00219606. Citado na página 28,
- 67 FISCHER, N. M. et al. Properties of Organic Liquids when Simulated with Long-Range Lennard-Jones Interactions. *Journal of Chemical Theory and Computation*, American Chemical Society, v. 11, n. 7, p. 2938–2944, 2015. ISSN 1549-9618. Citado na página 28,
- 68 PARRINELLO, M.; RAHMAN, A. Polymorphic transitions in single crystals: A new molecular dynamics method. *J. Appl. Phys.*, v. 52, n. 12, p. 7182, 1981. ISSN 00218979. Citado na página 28,
- 69 HESS, B. et al. LINCX: A linear constraint solver for molecular simulations. *Journal of Computational Chemistry*, John Wiley & Sons, Inc., v. 18, n. 12, p. 1463–1472, 1997. ISSN 0192-8651. Citado na página 28,
- 70 NØRBÆK, R.; NIELSEN, J. K.; KONDO, T. Flavonoids from flowers of two *Crocus chrysanthus-biflorus* cultivars: 'Eye-catcher' and 'Spring Pearl' (Iridaceae). *Phytochemistry*, v. 51, n. 8, p. 1139–1146, 1999. ISSN 00319422. Citado 2 vezes nas páginas 28 e 61,
- 71 JAYAPRAKASAM, B. et al. Androechin, A New Chalcone Glucoside from *Andrographis Echiodes*. *Journal of Asian Natural Products Research*, v. 3, n. 1, p. 43–48, 2001. ISSN 1028-6020. Citado 2 vezes nas páginas 28 e 61,
- 72 Koteswara Rao, Y. et al. Flavonoids and andrographolides from *Andrographis paniculata*. *Phytochemistry*, v. 65, n. 16, p. 2317–2321, 2004. ISSN 00319422. Citado 2 vezes nas páginas 28 e 61,

- 73 REDDY, M. K. et al. A new chalcone and a flavone from *andrographis neesiana*. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, The Pharmaceutical Society of Japan, v. 51, n. 7, p. 854–856, 2003. Citado 2 vezes nas páginas 28 e 61,
- 74 ARANTES, P. R. et al. Conformational characterization of ipomotaosides and their recognition by COX-1 and 2. *Molecules*, Molecular Diversity Preservation International, v. 19, n. 4, p. 5421–5433, 2014. Citado 2 vezes nas páginas 28 e 61,
- 75 POL-FACHIN, L.; SERRATO, R. V.; VERLI, H. Solution conformation and dynamics of exopolysaccharides from *Burkholderia* species. *Carbohydrate Research*, v. 345, n. 13, p. 1922–1931, 2010. ISSN 00086215. Citado 2 vezes nas páginas 28 e 61,
- 76 LAIO, A.; GERVASIO, F. L. Metadynamics: a method to simulate rare events and reconstruct the free energy in biophysics, chemistry and material science. *Reports on Progress in Physics*, IOP Publishing, v. 71, n. 12, p. 126601, 2008. Citado na página 29,
- 77 BONOMI, M. et al. PLUMED: A portable plugin for free-energy calculations with molecular dynamics. *Computer Physics Communications*, v. 180, n. 10, p. 1961–1972, oct 2009. Citado na página 29,
- 78 DELANO, W. Pymol: An open-source molecular graphics tool. *CCP4 Newsletter On Protein Crystallography*, v. 700, 2002. Citado na página 29,
- 79 JO, A. R. et al. Soluble epoxide hydrolase inhibitory components from *rheum undulatum* and in silico approach. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, Taylor & Francis, v. 31, n. sup2, p. 70–78, 2016. Citado na página 60,
- 80 CHINNADURAI, R. K.; SARAVANARAMAN, P.; BOOPATHY, R. Understanding the molecular mechanism of aryl acylamidase activity of acetylcholinesterase - An in silico study. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 580, p. 1–13, 2015. ISSN 10960384. Citado na página 60,
- 81 UNTERGEHRER, M. et al. Structure-Dependent Deconjugation of Flavonoid Glucuronides by Human β -Glucuronidase - In Vitro and In Silico Analyses. *Planta Medica*, v. 81, n. 12-13, p. 1182–1189, 2015. ISSN 14390221. Citado na página 60,
- 82 DING, F.; PENG, W.; PENG, Y.-K. Biophysical Exploration of Protein-Flavonols Recognition: Effects of Molecular Property and Conformational Flexibility. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2016. ISSN 1463-9076. Citado na página 60,

Anexos

ANEXO A – Topologias

```

; Acrylophenone
[ CHL1 ]
[ atoms ]
  CA CR1 0.00000 0
  CB CR1 0.00000 0
  C C 0.32000 1
  O O -0.32000 1
  CG C 0.00000 2
  CD1 C -0.12000 3
  HD1 HC 0.12000 3
  CD2 C -0.12000 4
  HD2 HC 0.12000 4
  CE1 C -0.12000 5
  HE1 HC 0.12000 5
  CE2 C -0.12000 6
  HE2 HC 0.12000 6
  CZ C -0.12000 7
  HZ HC 0.12000 7
[ bonds ]
  CA CB gb_10
  CB C gb_27
  C O gb_5
  C CG gb_27
  CG CD1 gb_16
  CG CD2 gb_16
  CD1 HD1 gb_3
  CD1 CE1 gb_16
  CD2 HD2 gb_3
  CD2 CE2 gb_16
  CE1 HE1 gb_3
  CE1 CZ gb_16
  CE2 HE2 gb_3
  CE2 CZ gb_16
  CZ HZ gb_3
[ exclusions ]
; ai aj
  CA O
  CA CG
  CB CD2
  CB CD1
  O CD2
  O CD1
  C CE1
  C CE2
  C HD1
  C HD2
  CG HE1
  CG HE2
  CG CZ
  CD1 HD2
  CD1 CE2
  CD1 HZ
  HD1 CD2
  HD1 HE1
  HD1 CZ
  CD2 CE1
  CD2 HZ
  HD2 HE2
  HD2 CZ
  CE1 HE2
  HE1 CE2
  HE1 HZ
  HE2 HZ
[ angles ]
; ai aj ak gromos type
  CA CB C ga_27
  CB C O ga_30
  CB C CG ga_15
  CG C O ga_30
  C CG CD1 ga_27
  C CG CD2 ga_27
  CD1 CG CD2 ga_27
  CG CD1 HD1 ga_25
  CG CD1 CE1 ga_27
  HD1 CD1 CE1 ga_25
  CG CD2 HD2 ga_25
  CG CD2 CE2 ga_27
  HD2 CD2 CE2 ga_25
  CD1 CE1 HE1 ga_25
  CD1 CE1 CZ ga_27
  HE1 CE1 CZ ga_25
  CD2 CE2 HE2 ga_25
  CD2 CE2 CZ ga_27
  HE2 CE2 CZ ga_25
  CE1 CZ CE2 ga_27
  CE1 CZ HZ ga_25
  CE2 CZ HZ ga_25
[ impropers ]
; ai aj ak al gromos type
  CG CD1 CD2 C gi_1
  CG CD1 CE1 CZ gi_1
  CG CD2 CE2 CZ gi_1
  CD1 CG CD2 CE2 gi_1
  CD1 CG CE1 HD1 gi_1
  CD1 CE1 CZ CE2 gi_1
  CD2 CG CD1 CE1 gi_1
  CD2 CG CE2 HD2 gi_1
  CD2 CE2 CZ CE1 gi_1
  HE1 CD1 CZ CE1 gi_1
  HE2 CD2 CZ CE2 gi_1
  CZ CE1 CE2 HZ gi_1
  C CG CB O gi_1
[ dihedrals ]
; ai aj ak al gromos type
  CG C CB CA gd_40
  CD2 CG C CB gd_88
  CD2 CG C CB gd_89
; Acetophenone
[ CHL2 ]
[ atoms ]
  CA CH3 0.00000 1
  C C 0.32000 2
  O O -0.32000 2
  CG C 0.00000 1
  CD1 C -0.12000 3
  HD1 HC 0.12000 3
  CD2 C -0.12000 4
  HD2 HC 0.12000 4
  CE1 C -0.12000 5
  HE1 HC 0.12000 5
  CE2 C -0.12000 6
  HE2 HC 0.12000 6
  CZ C -0.12000 7
  HZ HC 0.12000 7
[ bonds ]
  CA C gb_27
  C O gb_5
  C CG gb_27
  CG CD1 gb_16

```



```

CB CR1 -0.06000 0
CG C 0.22000 0
CD1 C -0.23000 0
HD1 HC 0.12000 0
CD2 C -0.23000 0
HD2 HC 0.12000 0
CE1 C -0.12000 1
HE1 HC 0.12000 1
CE2 C -0.12000 1
HE2 HC 0.12000 1
CZ C -0.12000 1
HZ HC 0.12000 1

[ bonds ]
CA CB gb_10
CB CG gb_27
CG CD1 gb_16
CG CD2 gb_16
CD1 HD1 gb_3
CD1 CE1 gb_16
CD2 HD2 gb_3
CD2 CE2 gb_16
CE1 HE1 gb_3
CE1 CZ gb_16
CE2 HE2 gb_3
CE2 CZ gb_16
CZ HZ gb_3

[ exclusions ]
; ai aj
CA CD2
CA CD1
CB CE1
CB CE2
CB HD1
CB HD2
CG HE1
CG HE2
CG CZ
CD1 HD2
CD1 CE2
CD1 HZ
HD1 CD2
HD1 HE1
HD1 CZ
CD2 CE1
CD2 HZ
HD2 HE2
HD2 HE1
HE1 CE2
HE1 HZ
HE2 HZ

[ angles ]
; ai aj ak gromos type
CA CB CG ga_27
CB CG CD1 ga_27
CB CG CD2 ga_27
CD1 CG CD2 ga_27
CG CD1 HD1 ga_25
CG CD1 CE1 ga_27
HD1 CD1 CE1 ga_25
CG CD2 HD2 ga_25
CG CD2 CE2 ga_27
HD2 CD2 CE2 ga_25
CD1 CE1 HE1 ga_25
CD1 CE1 CZ ga_27
HE1 CE1 CZ ga_25
CD2 CE2 HE2 ga_25
CD2 CE2 CZ ga_27
HE2 CE2 CZ ga_25
CE1 CZ CE2 ga_27

CE1 CZ HZ ga_25
CE2 CZ HZ ga_25

[ dihedrals ]
; ai aj ak al gromos type
CD2 CG CB CA gd_60
CD2 CG CB CA gd_61

[ impropers ]
; ai aj ak al gromos type
CG CD1 CD2 CB gi_1
CG CD1 CE1 CZ gi_1
CG CD2 CE2 CZ gi_1
CD1 CG CD2 CE2 gi_1
CD1 CG CE1 HD1 gi_1
CD1 CE1 CZ CE2 gi_1
CD2 CG CD1 CE1 gi_1
CD2 CG CE2 HD2 gi_1
CD2 CE2 CZ CE1 gi_1
HE1 CD1 CZ CE1 gi_1
HE2 CD2 CZ CE2 gi_1
CZ CE1 CE2 HZ gi_1

; Etylbenzene
[ CHL6 ]
[ atoms ]
CA CH3 0.00000 0
CB CH2r 0.00000 0
CG C 0.00000 0
CD1 C -0.12000 1
HD1 HC 0.12000 1
CD2 C -0.12000 2
HD2 HC 0.12000 2
CE1 C -0.12000 3
HE1 HC 0.12000 3
CE2 C -0.12000 4
HE2 HC 0.12000 4
CZ C -0.12000 5
HZ HC 0.12000 5

[ bonds ]
CA CB gb_27
CB CG gb_27
CG CD1 gb_16
CG CD2 gb_16
CD1 HD1 gb_3
CD1 CE1 gb_16
CD2 HD2 gb_3
CD2 CE2 gb_16
CE1 HE1 gb_3
CE1 CZ gb_16
CE2 HE2 gb_3
CE2 CZ gb_16
CZ HZ gb_3

[ exclusions ]
; ai aj
CA CD1
CA CD2
CB CE1
CB CE2
CB HD1
CB HD2
CG HE1
CG HE2
CG CZ
CD1 HD2
CD1 CE2
CD1 HZ
HD1 CD2
HD1 HE1
HD1 CZ
CD2 CE1
CD2 HZ
HD2 HE2
HD2 HE1
HE1 CE2
HE1 HZ
HE2 HZ

```

```

HD2 HE2
HD2 CZ
CE1 HE2
HE1 CE2
HE1 HZ
HE2 HZ

[ angles ]
; ai aj ak gromos type
CA CB CG ga_15
CB CG CD1 ga_27
CB CG CD2 ga_27
CD1 CG CD2 ga_27
CG CD1 HD1 ga_25
CG CD1 CE1 ga_27
HD1 CD1 CE1 ga_25
CG CD2 HD2 ga_25
CG CD2 CE2 ga_27
HD2 CD2 CE2 ga_25
CD1 CE1 HE1 ga_25
CD1 CE1 CZ ga_27
HE1 CE1 CZ ga_25
CD2 CE2 HE2 ga_25
CD2 CE2 CZ ga_27
HE2 CE2 CZ ga_25
CE1 CZ CE2 ga_27
CE1 CZ HZ ga_25
CE2 CZ HZ ga_25

[ dihedrals ]
; ai aj ak al gromos type
CD2 CG CB CA gd_62
CD2 CG CB CA gd_63

[ impropers ]
; ai aj ak al gromos type
CG CD1 CD2 CB gi_1
CG CD1 CE1 CZ gi_1
CG CD2 CE2 CZ gi_1
CD1 CG CD2 CE2 gi_1
CD1 CG CE1 HD1 gi_1
CD1 CE1 CZ CE2 gi_1
CD2 CG CD1 CE1 gi_1
CD2 CG CE2 HD2 gi_1
CD2 CE2 CZ CE1 gi_1
HE1 CD1 CZ CE1 gi_1
HE2 CD2 CZ CE2 gi_1
CZ CE1 CE2 HZ gi_1

; Benzaldehyde
[BNZ]
[ atoms ]
C C 0.30000 0
H1 H 0.02000 0
O O -0.32000 0
CG C 0.00000 0
CD1 C -0.12000 2
HD1 HC 0.12000 2
CD2 C -0.12000 3
HD2 HC 0.12000 3
CE1 C -0.12000 4
HE1 HC 0.12000 4
CE2 C -0.12000 5
HE2 HC 0.12000 5
CZ C -0.12000 6
HZ HC 0.12000 6

[ bonds ]
C O gb_5
C H1 gb_3
CG C gb_27
CG CD1 gb_16

CG CD2 gb_16
CD1 HD1 gb_3
CD1 CE1 gb_16
CD2 HD2 gb_3
CD2 CE2 gb_16
CE1 HE1 gb_3
CE1 CZ gb_16
CE2 HE2 gb_3
CE2 CZ gb_16
CZ HZ gb_3

[ exclusions ]
; ai aj
CD1 O
CD2 O
CD1 H1
CD2 H1
C HD2
C HD1
C CE1
C CE2
CG HE1
CG HE2
CG CZ
CD1 HD2
CD1 CE2
CD1 HZ
HD1 CD2
HD1 HE1
HD1 CZ
CD2 CE1
CD2 HZ
HD2 HE2
HD2 CZ
CE1 HE2
HE1 CE2
HE1 HZ
HE2 HZ

[ angles ]
; ai aj ak gromos type
O C H1 ga_25
O C CG ga_33
H1 C CG ga_21
C CG CD1 ga_25
C CG CD2 ga_25
CD1 CG CD2 ga_27
CG CD1 HD1 ga_25
CG CD1 CE1 ga_27
HD1 CD1 CE1 ga_25
CG CD2 HD2 ga_25
CG CD2 CE2 ga_27
HD2 CD2 CE2 ga_25
CD1 CE1 HE1 ga_25
CD1 CE1 CZ ga_27
HE1 CE1 CZ ga_25
CD2 CE2 HE2 ga_25
CD2 CE2 CZ ga_27
HE2 CE2 CZ ga_25
CE1 CZ CE2 ga_27
CE1 CZ HZ ga_25
CE2 CZ HZ ga_25

[ dihedrals ]
; ai aj ak al gromos type
O C CG CD2 gd_56
O C CG CD2 gd_57

[ impropers ]
; ai aj ak al gromos type
C O H1 CG gi_1
CG CD1 CE1 CZ gi_1
CG CD2 CE2 CZ gi_1

```

```

CD1   CG   CD2   CE2   gi_1           OG   CG   CD2   ga_25
CD1   CG   CE1   HD1   gi_1           CD1  CG   CD2   ga_27
CD1   CE1   CZ   CE2   gi_1           CG   CD1  HD1   ga_25
CD2   CG   CD1   CE1   gi_1           CG   CD1  CE1   ga_27
CD2   CG   CE2   HD2   gi_1           HD1  CD1  CE1   ga_25
CD2   CE2   CZ   CE1   gi_1           CD1  CE1  HE1   ga_25
HE1   CD1   CZ   CE1   gi_1           CD1  CE1   CZ   ga_27
HE2   CD2   CZ   CE2   gi_1           HE1  CE1   CZ   ga_25
CZ   CE1   CE2   HZ   gi_1           CE1  CZ   HZ   ga_25
                                           CE1  CZ   CE2   ga_27
                                           HZ   CZ   CE2   ga_25
                                           CZ   CE2  HE2   ga_25
                                           CZ   CE2  CD2   ga_27
                                           HE2  CE2  CD2   ga_25
                                           CE2  CD2  CG   ga_27
                                           HD2  CD2  CE2   ga_25
                                           HD2  CD2  CG   ga_25
                                           CH3   OG   CG   ga_12

; Methoxybenzene
[ MBO ]
[ atoms ]
  CG   C   0.41000   1
  OG   OE  -0.35000   1
  CH3  CH3  0.18000   1
  CD1  C   -0.28000   1
  HD1  HC   0.16000   1
  CD2  C   -0.28000   1
  HD2  HC   0.16000   1
  CE1  C   -0.12000   2
  HE1  HC   0.12000   2
  CE2  C   -0.12000   3
  HE2  HC   0.12000   3
  CZ   C   -0.12000   4
  HZ   HC   0.12000   4

[ bonds ]
  CG   OG   gb_13
  OG   CH3  gb_13
  CG   CD1  gb_16
  CG   CD2  gb_16
  CD1  CE1  gb_16
  CD1  HD1  gb_3
  CE1  CZ   gb_16
  CE1  HE1  gb_3
  CZ   HZ   gb_3
  CZ   CE2  gb_16
  CE2  HE2  gb_3
  CE2  CD2  gb_16
  CD2  HD2  gb_3

[ exclusions ]
; ai   aj
; i,   i+3
  CG   HE1
  CG   HE2
  CG   CZ
  CD1  HD2
  CD1  CE2
  CD1  HZ
  HD1  CD2
  HD1  HE1
  HD1  CZ
  CD2  CE1
  CD2  HZ
  HD2  HE2
  HD2  CZ
  CE1  HE2
  HE1  CE2
  HE1  HZ
  HE2  HZ
  CE1  OG
  CE2  OG
  OG   HD1
  OG   HD2
  CH3  CD2
  CH3  CD1

[ angles ]
; ai   aj   ak   gromos type
  OG   CG   CD1   ga_25

  OG   CG   CD2   ga_25
  CD1  CG   CD2   ga_27
  CG   CD1  HD1   ga_25
  CG   CD1  CE1   ga_27
  HD1  CD1  CE1   ga_25
  CD1  CE1  HE1   ga_25
  CD1  CE1   CZ   ga_27
  HE1  CE1   CZ   ga_25
  CE1  CZ   HZ   ga_25
  CE1  CZ   CE2   ga_27
  HZ   CZ   CE2   ga_25
  CZ   CE2  HE2   ga_25
  CZ   CE2  CD2   ga_27
  HE2  CE2  CD2   ga_25
  CE2  CD2  CG   ga_27
  HD2  CD2  CE2   ga_25
  HD2  CD2  CG   ga_25
  CH3   OG   CG   ga_12

[ dihedrals ]
; ai   aj   ak   al   gromos type
  CD1  CG   OG   CH3   gd_64
  CD1  CG   OG   CH3   gd_65

[ impropers ]
; ai   aj   ak   al   gromos type
  CG   CD1  CD2  OG   gi_1
  CG   CD1  CE1  CZ   gi_1
  CG   CD2  CE2  CZ   gi_1
  CD1  CG   CE1  HD1   gi_1
  CD1  CG   CD2  CE2   gi_1
  CD1  CE1  CZ   CE2   gi_1
  CE1  CD1  CZ   HE1   gi_1
  CE1  CD1  CG   CD2   gi_1
  CE1  CZ   CE2  CD2   gi_1
  CZ   CE1  CE2  HZ   gi_1
  CE2  CZ   CD2  HE2   gi_1
  CD2  CE2  CG   HD2   gi_1
  CD1  CE1  CZ   CE2   gi_1

; Phenol
[ PHN ] ;
[ atoms ]
  OH   OA   -0.55000   1
  HH   H    0.40000   1
  CG   C    0.25000   1
  CD1  C   -0.20000   1
  HD1  HC   0.15000   1
  CD2  C   -0.20000   1
  HD2  HC   0.15000   1
  CE1  C   -0.12000   2
  HE1  HC   0.12000   2
  CE2  C   -0.12000   3
  HE2  HC   0.12000   3
  HZ   HC   0.12000   4
  CZ   C   -0.12000   4

[ bonds ]
  CG   OH   gb_13
  OH   HH   gb_1
  CG   CD1  gb_16
  CG   CD2  gb_16
  CD1  CE1  gb_16
  CD1  HD1  gb_3
  CE1  CZ   gb_16
  CE1  HE1  gb_3
  CZ   HZ   gb_3
  CZ   CE2  gb_16
  CE2  HE2  gb_3
  CE2  CD2  gb_16
  CD2  HD2  gb_3

[ exclusions ]

```

```

; removal of Lennard-Jones interaction with third neighbors (i,i+3)
; ai aj
; i, i+3
CG HE1
CG HE2
CG CZ
CD1 HD2
CD1 CE2
CD1 HZ
HD1 CD2
HD1 HE1
HD1 CZ
CD2 CE1
CD2 HZ
HD2 HE2
HD2 CZ
CE1 HE2
HE1 CE2
HE1 HZ
HE2 HZ
CE1 OH
CE2 OH
OH HD1
OH HD2
HH CD2
HH CD1

[ angles ]
; ai aj ak gromos type
OH CG CD1 ga_25
OH CG CD2 ga_25
CD1 CG CD2 ga_27
CG CD1 HD1 ga_25
CG CD1 CE1 ga_27
HD1 CD1 CE1 ga_25
CD1 CE1 HE1 ga_25
CD1 CE1 CZ ga_27
HE1 CE1 CZ ga_25
CE1 CZ HZ ga_25
CE1 CZ CE2 ga_27
HZ CZ CE2 ga_25
CZ CE2 HE2 ga_25
CZ CE2 CD2 ga_27
HE2 CE2 CD2 ga_25
CE2 CD2 CG ga_27
HD2 CD2 CE2 ga_25
HD2 CD2 CG ga_25
HH OH CG ga_12

[ dihedrals ]
; ai aj ak al gromos type
HH OH CG CD1 gd_50
HH OH CG CD1 gd_51

[ impropers ]
; ai aj ak al gromos type
CG CD1 CD2 OH gi_1
CG CD1 CE1 CZ gi_1
CG CD2 CE2 CZ gi_1
CD1 CG CE1 HD1 gi_1
CD1 CG CD2 CE2 gi_1
CD1 CE1 CZ CE2 gi_1
CE1 CD1 CZ HE1 gi_1
CE1 CD1 CG CD2 gi_1
CE1 CZ CE2 CD2 gi_1
CZ CE1 CE2 HZ gi_1
CE2 CZ CD2 HE2 gi_1
CD2 CE2 CG HD2 gi_1
CD1 CE1 CZ CE2 gi_1

; 6-phenyl-2,3-dihydropyran-4-one
[FLV]
[ atoms ]
CD1 HC 0.00000 0
CP HC 0.00000 0
CE1 C 0.40000 1
CE2 C -0.24000 1
OE OE -0.30000 1
CO C 0.64000 1
O O -0.50000 1
CG C 0.29000 2
CD2 C -0.48000 2
HD2 HC 0.19000 2
CG2 C 0.00000 3
CZ2 C -0.12000 3
HZ2 HC 0.12000 3
CM2 C -0.12000 3
OM2 HC 0.12000 3
CM3 C -0.12000 3
OM3 HC 0.12000 3
CD3 C -0.12000 4
HD3 HC 0.12000 4
CE3 C -0.12000 5
HE HC 0.12000 5

[ bonds ]
CD3 CG2 gb_16
CD1 CE1 gb_3
CE1 CE2 gb_16
CE2 CP gb_3
CE1 OE gb_13
OE CG gb_13
CG CD2 gb_16
CD2 HD2 gb_3
CD2 CO gb_16
CO O gb_5
CO CE2 gb_16
CG CG2 gb_16
CD3 HD3 gb_3
CD3 CE3 gb_16
CE3 HE gb_3
CE3 CZ2 gb_16
CZ2 HZ2 gb_3
CZ2 CM2 gb_16
CM2 OM2 gb_3
CM2 CM3 gb_16
CM3 OM3 gb_3
CM3 CG2 gb_16

[ exclusions ]
CP CD1
CP OE
CP CD2
CP O
CD1 CG
CD1 CO
CE1 CG2
CE1 CD2
CE1 O
CE2 CG
CE2 HD2
CO OE
CO CG2
O HD2
O CG
HD2 CG2
HD2 OE
CD2 CD3
CD2 CM3
OE CD3
OE CM3
CG CE3
CG CM2
CG OM3
CG HD3
CG2 CZ2
CG2 HE

```

```

CG2 OM2
HD3 HE
HD3 CZ2
HD3 CM3
CD3 CM2
CD3 OM3
CD3 HZ2
HE HZ2
HE CM2
CE3 CM3
CE3 OM2
HZ2 OM2
HZ2 CM3
CZ2 OM3
OM2 OM3
[ angles ]
; ai aj ak gromos type
CD1 CE1 CE2 ga_27
CD1 CE1 OE ga_27
CE2 CE1 OE ga_27
CE1 CE2 CP ga_27
CE1 CE2 CO ga_27
CP CE2 CO ga_27
CE1 OE CG ga_27
OE CG CD2 ga_27
OE CG CG2 ga_25
CD2 CG CG2 ga_25
CG CD2 CO ga_27
CG CD2 HD2 ga_25
HD2 CD2 CO ga_25
CD2 CO O ga_25
CE2 CO O ga_25
CD2 CO CE2 ga_27
CG CG2 CD3 ga_25
CG CG2 CM3 ga_25
CD3 CG2 CM3 ga_27
CG2 CD3 HD3 ga_25
CG2 CD3 CE3 ga_27
HD3 CD3 CE3 ga_25
CD3 CE3 CZ2 ga_27
CD3 CE3 HE ga_25
HE CE3 CZ2 ga_25
CE3 CZ2 CM2 ga_27
CE3 CZ2 HZ2 ga_25
HZ2 CZ2 CM2 ga_25
CZ2 CM2 OM2 ga_25
CZ2 CM2 CM3 ga_27
OM2 CM2 CM3 ga_25
CM2 CM3 CG2 ga_27
CM2 CM3 OM3 ga_25
CG2 CM3 OM3 ga_25

[ impropers ]
CD1 CE1 CE2 CP gi_3
CE2 CE1 OE CG gi_3
CE1 OE CG CD2 gi_3
OE CG CD2 CO gi_3
CG CD2 CO CE2 gi_3
CD2 CO CE2 CE1 gi_3
CG2 CD3 CE3 CZ2 gi_3
CD3 CE3 CZ2 CM2 gi_3
CE3 CZ2 CM2 CM3 gi_3
CZ2 CM2 CM3 CG2 gi_3
CM2 CM3 CG2 CD3 gi_3
CM3 CG2 CD3 CE3 gi_3
CO CD2 CE2 O gi_3
CD2 CG CO HD2 gi_3
CD3 CE3 CG2 HD3 gi_3
CE3 CZ2 CD3 HE gi_3
CZ2 CM2 CE3 HZ2 gi_3
CG OE CD2 CG2 gi_3
CM3 CM2 CG2 OM3 gi_3
CM2 CZ2 CM3 OM2 gi_3

CG2 CM3 CD3 CG gi_3
[ dihedrals ]
OE CG CG2 CD3 gd_52
OE CG CG2 CD3 gd_53

; Compound 11
[FLV1]
[ atoms ]
HZ1 HC 0.20000 0
CZ1 C -0.38000 0
CM1 C 0.41000 0
OM1 OE -0.35000 0
ME1 CH3 0.18000 0
CD1 C -0.24000 0
HD1 HC 0.16000 0
CP C 0.25000 0
OP OA -0.63000 0
HP H 0.40000 0
CE1 C 0.40000 1
CE2 C -0.24000 1
OE OE -0.30000 1
CO C 0.64000 1
O O -0.50000 1
CG C 0.29000 2
CD2 C -0.48000 2
HD2 HC 0.19000 2
CG2 C -0.12000 3
CZ2 C -0.24000 3
HZ2 HC 0.12000 3
CM2 C 0.19000 3
OM2 OE -0.32000 3
ME2 CH3 0.25000 3
CM3 C 0.19000 3
OM3 OE -0.32000 3
ME3 CH3 0.25000 3
CD3 C -0.12000 4
HD3 HC 0.12000 4
CE3 C -0.12000 5
HE HC 0.12000 5

[ bonds ]
HZ1 CZ1 gb_3
CZ1 CM1 gb_16
CZ1 CP gb_16
CD3 CG2 gb_16
CM1 OM1 gb_13
OM1 ME1 gb_13
CM1 CD1 gb_16
CD1 HD1 gb_3
CD1 CE1 gb_16
CE1 CE2 gb_16
CE2 CP gb_16
CP OP gb_13
OP HP gb_1
CE1 OE gb_13
OE CG gb_13
CG CD2 gb_16
CD2 HD2 gb_3
CD2 CO gb_16
CO O gb_5
CO CE2 gb_16
CG CG2 gb_16
CD3 HD3 gb_3
CD3 CE3 gb_16
CE3 HE gb_3
CE3 CZ2 gb_16
CZ2 HZ2 gb_3
CZ2 CM2 gb_16
CM2 OM2 gb_13
OM2 ME2 gb_13
CM2 CM3 gb_16
CM3 OM3 gb_13
OM3 ME3 gb_13

```

```

    CM3  CG2  gb_16
[ exclusions ]
OM1  HZ1
OM1  HD1
OM1  CE1
OM1  CP
CM1  CE2
CM1  OE
CM1  OP
HZ1  CD1
HZ1  CE2
HZ1  OP
CZ1  CE1
CZ1  CO
CZ1  HD1
OP  CO
OP  CE1
CP  CD1
CP  OE
CP  CD2
CP  O
CD1  CG
CD1  CO
HD1  OE
HD1  CE2
CE1  CG2
CE1  CD2
CE1  O
CE2  CG
CE2  HD2
CO  OE
CO  CG2
O  HD2
O  CG
HD2  CG2
HD2  OE
CD2  CD3
CD2  CM3
OE  CD3
OE  CM3
CG  CE3
CG  CM2
CG  OM3
CG  HD3
CG2  CZ2
CG2  HE
CG2  OM2
HD3  HE
HD3  CZ2
HD3  CM3
CD3  CM2
CD3  OM3
CD3  HZ2
HE  HZ2
HE  CM2
CE3  CM3
CE3  OM2
HZ2  OM2
HZ2  CM3
CZ2  OM3
OM2  OM3
[ angles ]
; ai aj ak gromos type
ME1  OM1  CM1  ga_12
OM1  CM1  CD1  ga_25
OM1  CM1  CZ1  ga_25
CZ1  CM1  CD1  ga_27
CM1  CD1  HD1  ga_25
HD1  CD1  CE1  ga_25
CM1  CD1  CE1  ga_27
CD1  CE1  CE2  ga_27
CD1  CE1  OE  ga_27
CE2  CE1  OE  ga_27
CE1  CE2  CP  ga_27
CE1  CE2  CO  ga_27
CP  CE2  CO  ga_27
CE2  CP  CZ1  ga_27
CE2  CP  OP  ga_25
OP  CP  CZ1  ga_25
CP  OP  HP  ga_12
CP  CZ1  CM1  ga_27
CP  CZ1  HZ1  ga_25
HZ1  CZ1  CM1  ga_25
CE1  OE  CG  ga_27
OE  CG  CD2  ga_27
OE  CG  CG2  ga_25
CD2  CG  CG2  ga_25
CG  CD2  CO  ga_27
CG  CD2  HD2  ga_25
HD2  CD2  CO  ga_25
CD2  CO  O  ga_25
CE2  CO  O  ga_25
CD2  CO  CE2  ga_27
CG  CG2  CD3  ga_25
CG  CG2  CM3  ga_25
CD3  CG2  CM3  ga_27
CG2  CD3  HD3  ga_25
CG2  CD3  CE3  ga_27
HD3  CD3  CE3  ga_25
CD3  CE3  CZ2  ga_27
CD3  CE3  HE  ga_25
HE  CE3  CZ2  ga_25
CE3  CZ2  CM2  ga_27
CE3  CZ2  HZ2  ga_25
HZ2  CZ2  CM2  ga_25
CZ2  CM2  OM2  ga_25
CM2  OM2  ME2  ga_12
CZ2  CM2  CM3  ga_27
OM2  CM2  CM3  ga_25
CM2  CM3  CG2  ga_27
CM2  CM3  OM3  ga_25
CG2  CM3  OM3  ga_25
CM3  OM3  ME3  ga_12
[ impropers ]
CZ1  CM1  CD1  CE1  gi_3
CM1  CD1  CE1  CE2  gi_3
CD1  CE1  CE2  CP  gi_3
CE1  CE2  CP  CZ1  gi_3
CE2  CP  CZ1  CM1  gi_3
CP  CZ1  CM1  CD1  gi_3
CE2  CE1  OE  CG  gi_3
CE1  OE  CG  CD2  gi_3
OE  CG  CD2  CO  gi_3
CG  CD2  CO  CE2  gi_3
CD2  CO  CE2  CE1  gi_3
CG2  CD3  CE3  CZ2  gi_3
CD3  CE3  CZ2  CM2  gi_3
CE3  CZ2  CM2  CM3  gi_3
CZ2  CM2  CM3  CG2  gi_3
CM2  CM3  CG2  CD3  gi_3
CM3  CG2  CD3  CE3  gi_3
CZ1  CM1  CP  HZ1  gi_3
CD1  CE1  CM1  HD1  gi_3
CO  CD2  CE2  O  gi_3
CD2  CG  CO  HD2  gi_3
CD3  CE3  CG2  HD3  gi_3
CE3  CZ2  CD3  HE  gi_3
CZ2  CM2  CE3  HZ2  gi_3
CG  OE  CD2  CG2  gi_3
CP  CE2  CZ1  OP  gi_3
CM1  CZ1  CD1  OM1  gi_3
CM3  CM2  CG2  OM3  gi_3
CM2  CZ2  CM3  OM2  gi_3
CG2  CM3  CD3  CG  gi_3
[ dihedrals ]
OE  CG  CG2  CD3  gd_42

```



```

OE CG CG2 CD3 gd_43
ME2 OM2 CM2 CZ2 gd_44
ME2 OM2 CM2 CZ2 gd_45
ME3 OM3 CM3 CM2 gd_44
ME3 OM3 CM3 CM2 gd_45
HP OP CP CE2 gd_46
HP OP CP CE2 gd_47
ME1 OM1 CM1 CD1 gd_44
ME1 OM1 CM1 CD1 gd_45
OE CG CG2 CM3 gd_43
OE CG CG2 CM3 gd_42

```

```

; Compound 12
[FLV2]

```

```
[ atoms ]
```

```

HZ1 HC 0.20000 0
CZ1 C -0.38000 0
CM1 C 0.41000 0
OM1 OE -0.35000 0
ME1 CH3 0.18000 0
CD1 C -0.24000 0
HD1 HC 0.16000 0
CP C 0.25000 0
OP OA -0.63000 0
HP H 0.40000 0
CE1 C 0.40000 1
CE2 C -0.24000 1
OE OE -0.30000 1
CO C 0.64000 1
O O -0.50000 1
CG C 0.29000 2
CD2 C -0.48000 2
HD2 HC 0.19000 2
CG2 C -0.12000 3
CM3 C 0.41000 3
OM3 OE -0.35000 3
ME3 CH3 0.18000 3
CM2 C -0.28000 3
HM HC 0.16000 3
CZ2 C -0.28000 4
HZ2 HC 0.16000 4
CD3 C -0.28000 4
HD3 HC 0.16000 4
CE3 C 0.41000 4
OM2 OE -0.35000 4
ME2 CH3 0.18000 4

```

```
[ bonds ]
```

```

HZ1 CZ1 gb_3
CZ1 CM1 gb_16
CZ1 CP gb_16
CD3 CG2 gb_16
CM1 OM1 gb_13
OM1 ME1 gb_13
CM1 CD1 gb_16
CD1 HD1 gb_3
CD1 CE1 gb_16
CE1 CE2 gb_16
CE2 CP gb_16
CP OP gb_13
OP HP gb_1
CE1 OE gb_13
OE CG gb_13
CG CD2 gb_16
CD2 HD2 gb_3
CD2 CO gb_16
CO O gb_5
CO CE2 gb_16
CG CG2 gb_16
CD3 HD3 gb_3
CD3 CE3 gb_16
CE3 OM2 gb_13
OM2 ME2 gb_13
CE3 CZ2 gb_16

```

```

CZ2 HZ2 gb_3
CZ2 CM2 gb_16
CM2 HM gb_3
CM2 CM3 gb_16
CM3 OM3 gb_13
OM3 ME3 gb_13
CM3 CG2 gb_16

```

```
[ exclusions ]
```

```

OM1 HZ1
OM1 HD1
OM1 CE1
OM1 CP
CM1 CE2
CM1 OE
CM1 OP
HZ1 CD1
HZ1 CE2
HZ1 OP
CZ1 CE1
CZ1 CO
CZ1 HD1
OP CO
OP CE1
CP CD1
CP OE
CP CD2
CP O
CD1 CG
CD1 CO
HD1 OE
HD1 CE2
CE1 CG2
CE1 CD2
CE1 O
CE2 CG
CE2 HD2
CO OE
CO CG2
O HD2
O CG
HD2 CG2
HD2 OE
CD2 CD3
CD2 CM3
OE CD3
OE CM3
CG CE3
CG CM2
CG OM3
CG HD3
CG2 CZ2
CG2 OM2
CG2 HM
HD3 OM2
HD3 CZ2
HD3 CM3
CD3 CM2
CD3 OM3
CD3 HZ2
OM2 HZ2
OM2 CM2
CE3 CM3
CE3 HM
HZ2 HM
HZ2 CM3
CZ2 OM3
HM OM3

```

```
[ angles ]
```

```

; ai aj ak gromos type
ME1 OM1 CM1 ga_12
OM1 CM1 CD1 ga_25
OM1 CM1 CZ1 ga_25
CZ1 CM1 CD1 ga_27

```

```

CM1 CD1 HD1 ga_25
HD1 CD1 CE1 ga_25
CM1 CD1 CE1 ga_27
CD1 CE1 CE2 ga_27
CD1 CE1 OE ga_27
CE2 CE1 OE ga_27
CE1 CE2 CP ga_27
CE1 CE2 CO ga_27
CP CE2 CO ga_27
CE2 CP CZ1 ga_27
CE2 CP OP ga_25
OP CP CZ1 ga_25
CP OP HP ga_12
CP CZ1 CM1 ga_27
CP CZ1 HZ1 ga_25
HZ1 CZ1 CM1 ga_25
CE1 OE CG ga_27
OE CG CD2 ga_27
OE CG CG2 ga_25
CD2 CG CG2 ga_25
CG CD2 CO ga_27
CG CD2 HD2 ga_25
HD2 CD2 CO ga_25
CD2 CO O ga_25
CE2 CO O ga_25
CD2 CO CE2 ga_27
CG CG2 CD3 ga_25
CG CG2 CM3 ga_25
CD3 CG2 CM3 ga_27
CG2 CD3 HD3 ga_25
CG2 CD3 CE3 ga_27
HD3 CD3 CE3 ga_25
CD3 CE3 CZ2 ga_27
CD3 CE3 OM2 ga_25
OM2 CE3 CZ2 ga_25
CE3 OM2 ME2 ga_12
CE3 CZ2 CM2 ga_27
CE3 CZ2 HZ2 ga_25
HZ2 CZ2 CM2 ga_25
CZ2 CM2 HM ga_25
CZ2 CM2 CM3 ga_27
HM CM2 CM3 ga_25
CM2 CM3 CG2 ga_27
CM2 CM3 OM3 ga_25
CG2 CM3 OM3 ga_25
CM3 OM3 ME3 ga_12

[ impropers ]
CZ1 CM1 CD1 CE1 gi_3
CM1 CD1 CE1 CE2 gi_3
CD1 CE1 CE2 CP gi_3
CE1 CE2 CP CZ1 gi_3
CE2 CP CZ1 CM1 gi_3
CP CZ1 CM1 CD1 gi_3
CE2 CE1 OE CG gi_3
CE1 OE CG CD2 gi_3
OE CG CD2 CO gi_3
CG CD2 CO CE2 gi_3
CD2 CO CE2 CE1 gi_3
CG2 CD3 CE3 CZ2 gi_3
CD3 CE3 CZ2 CM2 gi_3
CE3 CZ2 CM2 CM3 gi_3
CZ2 CM2 CM3 CG2 gi_3
CM2 CM3 CG2 CD3 gi_3
CM3 CG2 CD3 CE3 gi_3
CZ1 CM1 CP HZ1 gi_3
CD1 CE1 CM1 HD1 gi_3
CO CD2 CE2 O gi_3
CD2 CG CO HD2 gi_3
CD3 CE3 CG2 HD3 gi_3
CE3 CZ2 CD3 OM2 gi_3
CZ2 CM2 CE3 HZ2 gi_3
CG OE CD2 CG2 gi_3
CP CE2 CZ1 OP gi_3
CM1 CZ1 CD1 OM1 gi_3
CM3 CM2 CG2 OM3 gi_3
CM2 CZ2 CM3 HM gi_3
CG2 CM3 CD3 CG gi_3
[ dihedrals ]
OE CG CG2 CD3 gd_42
OE CG CG2 CD3 gd_43
ME2 OM2 CE3 CZ2 gd_44
ME2 OM2 CE3 CZ2 gd_45
ME3 OM3 CM3 CM2 gd_44
ME3 OM3 CM3 CM2 gd_45
HP OP CP CE2 gd_46
HP OP CP CE2 gd_47
ME1 OM1 CM1 CD1 gd_44
ME1 OM1 CM1 CD1 gd_45
OE CG CG2 CM3 gd_43
OE CG CG2 CM3 gd_42

; Compound 13
[FLV3]
[ atoms ]
HZ1 HC 0.15000 0
CZ1 C -0.20000 0
CP1 C 0.25000 0
OP1 OA -0.55000 0
HP1 H 0.40000 0
CD1 C -0.20000 0
HD1 HC 0.15000 0
CP C 0.25000 0
OP OA -0.55000 0
HP H 0.40000 0
CE1 C 0.40000 1
CE2 C -0.24000 1
OE OE -0.30000 1
CO C 0.64000 1
O O -0.50000 1
CD2 C 0.23200 2
CG C 0.17000 3
CG2 C -0.05000 3
CM2 C -0.24000 3
HM HC 0.12000 3
CD4 C -0.12000 3
HD4 HC 0.12000 3
CD3 C -0.24000 4
HD3 HC 0.12000 4
CE3 C 0.19000 4
OM2 OE -0.32000 4
ME2 CH3 0.25000 4
CZ2 C 0.23200 5

[ bonds ]
HZ1 CZ1 gb_3
CZ1 CP1 gb_16
CZ1 CP gb_16
CD3 CG2 gb_16
CP1 OP1 gb_13
OP1 HP1 gb_1
CP1 CD1 gb_16
CD1 HD1 gb_3
CD1 CE1 gb_16
CE1 CE2 gb_16
CE2 CP gb_16
CP OP gb_13
OP HP gb_1
CE1 OE gb_13
OE CG gb_13
CG CD2 gb_16
CD2 CO gb_16
CO O gb_5
CO CE2 gb_16
CG CG2 gb_16
CD3 HD3 gb_3
CD3 CE3 gb_16
CE3 OM2 gb_13

```

```

OM2 ME2 gb_13
CE3 CZ2 gb_16
CZ2 CM2 gb_16
CM2 HM gb_3
CM2 CD4 gb_16
CD4 HD4 gb_3
CD4 CG2 gb_16
[ exclusions ]
OP1 HZ1
OP1 HD1
OP1 CE1
OP1 CP
CP1 CE2
CP1 OE
CP1 OP
HZ1 CD1
HZ1 CE2
HZ1 OP
CZ1 CE1
CZ1 CO
CZ1 HD1
OP CO
OP CE1
CP CD1
CP OE
CP CD2
CP O
CD1 CG
CD1 CO
HD1 OE
HD1 CE2
CE1 CG2
CE1 CD2
CE1 O
CE2 CG
CE2 +O1
CO OE
CO CG2
O +O1
O CG
+O1 CG2
+O1 OE
CD2 CD3
CD2 CD4
OE CD3
OE CD4
CG CE3
CG CM2
CG HD4
CG HD3
CG2 CZ2
CG2 OM2
CG2 HM
HD3 OM2
HD3 CZ2
HD3 CD4
CD3 CM2
CD3 HD4
CD3 -O1
OM2 -O1
OM2 CM2
CE3 CD4
CE3 HM
-O1 HM
-O1 CD4
CZ2 HD4
HM HD4
[ angles ]
; ai aj ak gromos type
HP1 OP1 CP1 ga_12
OP1 CP1 CD1 ga_25
OP1 CP1 CZ1 ga_25
CZ1 CP1 CD1 ga_27
CP1 CD1 HD1 ga_25
HD1 CD1 CE1 ga_25
CP1 CD1 CE1 ga_27
CD1 CE1 CE2 ga_27
CD1 CE1 OE ga_27
CE2 CE1 OE ga_27
CE1 CE2 CP ga_27
CE1 CE2 CO ga_27
CP CE2 CO ga_27
CE2 CP CZ1 ga_27
CE2 CP OP ga_25
OP CP CZ1 ga_25
CP OP HP ga_12
CP CZ1 CP1 ga_27
CP CZ1 HZ1 ga_25
HZ1 CZ1 CP1 ga_25
CE1 OE CG ga_27
OE CG CD2 ga_27
OE CG CG2 ga_25
CD2 CG CG2 ga_25
CG CD2 CO ga_27
CD2 CO O ga_25
CE2 CO O ga_25
CD2 CO CE2 ga_27
CG CG2 CD3 ga_25
CG CG2 CD4 ga_25
CD3 CG2 CD4 ga_27
CG2 CD3 HD3 ga_25
CG2 CD3 CE3 ga_27
HD3 CD3 CE3 ga_25
CD3 CE3 CZ2 ga_27
CD3 CE3 OM2 ga_25
OM2 CE3 CZ2 ga_25
CE3 OM2 ME2 ga_12
CE3 CZ2 CM2 ga_27
CZ2 CM2 HM ga_25
CZ2 CM2 CD4 ga_27
HM CM2 CD4 ga_25
CM2 CD4 CG2 ga_27
CM2 CD4 HD4 ga_25
CG2 CD4 HD4 ga_25
[ impropers ]
CZ1 CP1 CD1 CE1 gi_3
CP1 CD1 CE1 CE2 gi_3
CD1 CE1 CE2 CP gi_3
CE1 CE2 CP CZ1 gi_3
CE2 CP CZ1 CP1 gi_3
CP CZ1 CP1 CD1 gi_3
CE2 CE1 OE CG gi_3
CE1 OE CG CD2 gi_3
OE CG CD2 CO gi_3
CG CD2 CO CE2 gi_3
CD2 CO CE2 CE1 gi_3
CG2 CD3 CE3 CZ2 gi_3
CD3 CE3 CZ2 CM2 gi_3
CE3 CZ2 CM2 CD4 gi_3
CZ2 CM2 CD4 CG2 gi_3
CM2 CD4 CG2 CD3 gi_3
CD4 CG2 CD3 CE3 gi_3
CZ1 CP1 CP HZ1 gi_3
CD1 CE1 CP1 HD1 gi_3
CO CD2 CE2 O gi_3
CD3 CE3 CG2 HD3 gi_3
CE3 CZ2 CD3 OM2 gi_3
CG OE CD2 CG2 gi_3
CP CE2 CZ1 OP gi_3
CP1 CZ1 CD1 OP1 gi_3
CD4 CM2 CG2 HD4 gi_3
CM2 CZ2 CD4 HM gi_3
CG2 CD4 CD3 CG gi_3
CZ2 CE3 CM2 -O1 gi_3
CD2 CO CG +O1 gi_3
[ dihedrals ]

```

```

OE CG CG2 CD3 gd_42
OE CG CG2 CD3 gd_43
ME2 OM2 CE3 CZ2 gd_44
ME2 OM2 CE3 CZ2 gd_45
HP OP CP CE2 gd_46
HP OP CP CE2 gd_47
HP1 OP1 CP1 CD1 gd_46
HP1 OP1 CP1 CD1 gd_47
OE CG CG2 CD4 gd_43
OE CG CG2 CD4 gd_42

; 1st Glucose compound 13
[ BGD1 ]
[ atoms ]
C4 CH1 0.23200 0
O4 OA -0.64200 0
HO4 H 0.41000 0
C3 CH1 0.23200 1
O3 OA -0.64200 1
HO3 H 0.41000 1
C2 CH1 0.23200 2
O2 OA -0.64200 2
HO2 H 0.41000 2
C6 CH2 0.23200 3
O6 OA -0.64200 3
HO6 H 0.41000 3
C5 CH1 0.37600 4
O5 OA -0.48000 4
C1 CH1 0.23200 4
O1 OA -0.36000 4
[ bonds ]
C4 O4 gb_20
O4 HO4 gb_1
C4 C3 gb_26
C4 C5 gb_26
C3 O3 gb_20
C3 C2 gb_26
O3 HO3 gb_1
C2 O2 gb_20
C2 C1 gb_26
O2 HO2 gb_1
C6 O6 gb_20
C6 C5 gb_26
O6 HO6 gb_1
C5 O5 gb_20
O5 C1 gb_20
C1 O1 gb_20
O1 +CZ2 gb_13
[ angles ]
; ai aj ak gromos type
HO4 O4 C4 ga_12
O4 C4 C3 ga_9
O4 C4 C5 ga_9
C3 C4 C5 ga_8
C4 C3 O3 ga_9
C4 C3 C2 ga_8
O3 C3 C2 ga_9
C3 O3 HO3 ga_12
C3 C2 O2 ga_9
C3 C2 C1 ga_8
O2 C2 C1 ga_9
C2 O2 HO2 ga_12
O6 C6 C5 ga_9
C6 O6 HO6 ga_12
C4 C5 C6 ga_8
C4 C5 O5 ga_9
C6 C5 O5 ga_9
C5 O5 C1 ga_10
C2 C1 O5 ga_9
C2 C1 O1 ga_9
O5 C1 O1 ga_9
C1 O1 +CZ2 ga_10
O1 +CZ2 +CE3 ga_25

O1 +CZ2 +CM2 ga_25
[ impropers ]
; ai aj ak al gromos type
C4 C6 O5 C5 gi_2
C3 O3 C2 C4 gi_2
C5 O4 C3 C4 gi_2
C1 C3 O2 C2 gi_2
C2 O5 O1 C1 gi_2
[ dihedrals ]
; ai aj ak al gromos type
HO4 O4 C4 C3 gd_30
O4 C4 C3 O3 gd_18
O4 C4 C3 C2 gd_54
O4 C4 C3 C2 gd_55
C5 C4 C3 O3 gd_54
C5 C4 C3 O3 gd_55
C5 C4 C3 C2 gd_34
O4 C4 C5 C6 gd_54
O4 C4 C5 C6 gd_55
C3 C4 C5 C6 gd_34
C3 C4 C5 O5 gd_54
C3 C4 C5 O5 gd_55
C2 C3 O3 HO3 gd_30
C4 C3 C2 O2 gd_54
C4 C3 C2 O2 gd_55
C4 C3 C2 C1 gd_34
O3 C3 C2 O2 gd_18
O3 C3 C2 C1 gd_54
O3 C3 C2 C1 gd_55
C1 C2 O2 HO2 gd_30
C3 C2 C1 O5 gd_54
C3 C2 C1 O5 gd_55
C3 C2 C1 O1 gd_54
C3 C2 C1 O1 gd_55
O2 C2 C1 O1 gd_18
C5 C6 O6 HO6 gd_30
O6 C6 C5 O5 gd_5
O6 C6 C5 O5 gd_37
C4 C5 O5 C1 gd_29
C5 O5 C1 C2 gd_29
O5 C1 O1 +CZ2 gd_2
O5 C1 O1 +CZ2 gd_32
C1 O1 +CZ2 +CE3 gd_29

; 2nd Glucose compound 13
[ BGD2 ]
[ atoms ]
C4 CH1 0.23200 0
O4 OA -0.64200 0
HO4 H 0.41000 0
C3 CH1 0.23200 1
O3 OA -0.64200 1
HO3 H 0.41000 1
C2 CH1 0.23200 2
O2 OA -0.64200 2
HO2 H 0.41000 2
C6 CH2 0.23200 3
O6 OA -0.64200 3
HO6 H 0.41000 3
C5 CH1 0.37600 4
O5 OA -0.48000 4
C1 CH1 0.23200 4
O1 OA -0.36000 4
[ bonds ]
C4 O4 gb_20
O4 HO4 gb_1
C4 C3 gb_26
C4 C5 gb_26
C3 O3 gb_20
C3 C2 gb_26
O3 HO3 gb_1
C2 O2 gb_20
C2 C1 gb_26
O2 HO2 gb_1
C6 O6 gb_20
C6 C5 gb_26
O6 HO6 gb_1
C5 O5 gb_20
O5 C1 gb_20
C1 O1 gb_20
O1 +CZ2 gb_13
[ angles ]
; ai aj ak gromos type
HO4 O4 C4 ga_12
O4 C4 C3 ga_9
O4 C4 C5 ga_9
C3 C4 C5 ga_8
C4 C3 O3 ga_9
C4 C3 C2 ga_8
O3 C3 C2 ga_9
C3 O3 HO3 ga_12
C3 C2 O2 ga_9
C3 C2 C1 ga_8
O2 C2 C1 ga_9
C2 O2 HO2 ga_12
O6 C6 C5 ga_9
C6 O6 HO6 ga_12
C4 C5 C6 ga_8
C4 C5 O5 ga_9
C6 C5 O5 ga_9
C5 O5 C1 ga_10
C2 C1 O5 ga_9
C2 C1 O1 ga_9
O5 C1 O1 ga_9
C1 O1 +CZ2 ga_10
O1 +CZ2 +CE3 ga_25

```

```

O2  HO2  gb_1          O5  C1  O1  -CD2      gd_2
C6  O6   gb_20        O5  C1  O1  -CD2      gd_32
C6  C5   gb_26        C1  O1  -CD2     -CO      gd_29
O6  HO6  gb_1
C5  O5   gb_20
O5  C1   gb_20
C1  O1   gb_20
O1  -CD2 gb_13
[ angles ]
; ai  aj  ak  gromos type
HO4  O4  C4  ga_12
O4   C4  C3  ga_9
O4   C4  C5  ga_9
C3   C4  C5  ga_8
C4   C3  O3  ga_9
C4   C3  C2  ga_8
O3   C3  C2  ga_9
C3   O3  HO3  ga_12
C3   C2  O2  ga_9
C3   C2  C1  ga_8
O2   C2  C1  ga_9
C2   O2  HO2  ga_12
O6   C6  C5  ga_9
C6   O6  HO6  ga_12
C4   C5  C6  ga_8
C4   C5  O5  ga_9
C6   C5  O5  ga_9
C5   O5  C1  ga_10
C2   C1  O5  ga_9
C2   C1  O1  ga_9
O5   C1  O1  ga_9
C1   O1  -CD2 ga_10
O1   -CD2 -CO  ga_25
O1   -CD2 -CG  ga_25
[ impropers ]
; ai  aj  ak  al  gromos type
C4  C6  O5  C5  gi_2
C3  O3  C2  C4  gi_2
C5  O4  C3  C4  gi_2
C1  C3  O2  C2  gi_2
C2  O5  O1  C1  gi_2
[ dihedrals ]
; ai  aj  ak  al  gromos type
HO4  O4  C4  C3  gd_30
O4   C4  C3  O3  gd_18
O4   C4  C3  C2  gd_54
O4   C4  C3  C2  gd_55
C5   C4  C3  O3  gd_54
C5   C4  C3  O3  gd_55
C5   C4  C3  C2  gd_34
O4   C4  C5  C6  gd_54
O4   C4  C5  C6  gd_55
C3   C4  C5  C6  gd_34
C3   C4  C5  O5  gd_54
C3   C4  C5  O5  gd_55
C2   C3  O3  HO3  gd_30
C4   C3  C2  O2  gd_54
C4   C3  C2  O2  gd_55
C4   C3  C2  C1  gd_34
O3   C3  C2  O2  gd_18
O3   C3  C2  C1  gd_54
O3   C3  C2  C1  gd_55
C1   C2  O2  HO2  gd_30
C3   C2  C1  O5  gd_54
C3   C2  C1  O5  gd_55
C3   C2  C1  O1  gd_54
C3   C2  C1  O1  gd_55
O2   C2  C1  O1  gd_18
C5   C6  O6  HO6  gd_30
O6   C6  C5  O5  gd_5
O6   C6  C5  O5  gd_37
C4   C5  O5  C1  gd_29
C5   O5  C1  C2  gd_29
O5   C1  O1  -CD2      gd_2
O5   C1  O1  -CD2      gd_32
C1   O1  -CD2     -CO      gd_29
; Compound 14
[CHC1]
[ atoms ]
CO  C  0.32000  0
O  O  -0.32000  0
CG1 C  -0.24000  1
CM2 C  0.40000  1
OM2 OE  -0.30000  1
ME2 CH3 0.14000  1
CM3 C  0.40000  1
OM3 OE  -0.30000  1
ME3 CH3 0.14000  1
CE1 C  -0.41000  1
HE1 HC  0.17000  1
CE2 C  -0.41000  1
HE2 HC  0.17000  1
CM1 C  0.40000  1
OM1 OE  -0.30000  1
ME1 CH3 0.14000  1
CA  CR1 0.00000  2
CB  CR1 0.00000  2
CG2 C  -0.12000  3
CP  C  -0.12000  3
HP  H  0.12000  3
CD1 C  0.19000  3
OM6 OE  -0.32000  3
ME6 CH3 0.21000  3
CE3 C  -0.24000  3
HE3 HC  0.12000  3
CE4 C  0.19000  3
OM5 OE  -0.32000  3
ME5 CH3 0.21000  3
CZ  C  0.19000  3
OM4 OE  -0.32000  3
ME4 CH3 0.21000  3
[ bonds ]
CA  CO  gb_27
CO  O  gb_5
CG1  CO  gb_27
CG1  CM2  gb_16
CG1  CM3  gb_16
CM2  OM2  gb_13
OM2  ME2  gb_13
CM2  CE1  gb_16
CM3  OM3  gb_13
OM3  ME3  gb_13
CM3  CE2  gb_16
CE1  HE1  gb_3
CE1  CM1  gb_16
CE2  HE2  gb_3
CE2  CM1  gb_16
CM1  OM1  gb_13
OM1  ME1  gb_13
CA  CB  gb_13
CB  CG2  gb_27
CG2  CP  gb_16
CG2  CD1  gb_16
CP  HP  gb_3
CP  CE3  gb_16
CD1  OM6  gb_13
OM6  ME6  gb_13
CD1  CE4  gb_16
CE3  HE3  gb_3
CE3  CZ  gb_16
CE4  OM5  gb_13
OM5  ME5  gb_13
CE4  CZ  gb_16
CZ  OM4  gb_13
OM4  ME4  gb_13

```

```

[ exclusions ]
; ai aj
CM2 O
CM3 O
CO OM2
CO OM3
CO CE1
CO CE2
CG1 HE1
CG1 HE2
CG1 CM1
CM2 OM3
CM2 CE2
CM2 OM1
OM2 CM3
OM2 HE1
OM2 CM1
CM3 CE1
CM3 OM1
OM3 HE2
OM3 CM1
CE1 HE2
HE1 CE2
HE1 OM1
HE2 OM1
CA CD1
CA CP
CB CE3
CB CE4
CB HP
CB OM6
CG2 HE3
CG2 OM5
CG2 CZ
CP OM6
CP CE4
CP OM4
HP CD1
HP HE3
HP CZ
CD1 CE3
CD1 OM4
OM6 OM5
OM6 CZ
CE3 OM5
HE3 CE4
HE3 OM4
OM5 OM4

[ angles ]
; ai aj ak gromos type
CO CA CB ga_27
CG1 CO CA ga_27
O CO CA ga_33
O CO CG1 ga_33
CO CG1 CM2 ga_25
CO CG1 CM3 ga_25
CM2 CG1 CM3 ga_27
ME3 OM3 CM3 ga_12
OM3 CM3 CG1 ga_25
OM3 CM3 CE2 ga_25
CG1 CM2 CE1 ga_27
ME2 OM2 CM2 ga_12
OM2 CM2 CE1 ga_25
OM2 CM2 CG1 ga_25
CG1 CM3 CE2 ga_27
HD2 CM3 CE2 ga_25
CM2 CE1 HE1 ga_25
CM2 CE1 CM1 ga_27
HE1 CE1 CM1 ga_25
CM3 CE2 HE2 ga_25
CM3 CE2 CM1 ga_27
HE2 CE2 CM1 ga_25
CE1 CM1 CE2 ga_27

ME1 OM1 CM1 ga_12
OM1 CM1 CE1 ga_25
OM1 CM1 CE2 ga_25
CA CB CG2 ga_27
CB CG2 CP ga_27
CB CG2 CD1 ga_27
CP CG2 CD1 ga_27
CG2 CP HP ga_25
CG2 CP CE3 ga_27
HP CP CE3 ga_25
CG2 CD1 OM6 ga_25
CG2 CD1 CE4 ga_27
OM6 CD1 CE4 ga_25
CD1 OM6 ME6 ga_12
CP CE3 HE3 ga_25
CP CE3 CZ ga_27
HE3 CE3 CZ ga_25
CD1 CE4 OM5 ga_25
CD1 CE4 CZ ga_27
OM5 CE4 CZ ga_25
CE4 OM5 ME5 ga_12
CE3 CZ CE4 ga_27
CE3 CZ OM4 ga_25
CE4 CZ OM4 ga_25
CZ OM4 ME4 ga_12

[ impropers ]
; ai aj ak al gromos type
CO O CA CG1 gi_3
CO CM3 CM2 CG1 gi_3
CG1 CM2 CE1 CM1 gi_3
CG1 CM3 CE2 CM1 gi_3
CM2 CG1 CM3 CE2 gi_3
CM2 CG1 CE1 OM2 gi_3
CM2 CE1 CM1 CE2 gi_3
CM3 CG1 CM2 CE1 gi_3
CM3 CG1 CE2 OM3 gi_3
CM3 CE2 CM1 CE1 gi_3
HE1 CM2 CM1 CE1 gi_3
HE2 CM3 CM1 CE2 gi_3
CM1 CE1 CE2 OM1 gi_3
CG2 CP CD1 CB gi_3
CG2 CP CE3 CZ gi_3
CG2 CD1 CE4 CZ gi_3
CP CG2 CD1 CE4 gi_3
CP CG2 CE3 HP gi_3
CP CE3 CZ CE4 gi_3
CD1 CG2 CP CE3 gi_3
CD1 CG2 CE4 OM6 gi_3
CD1 CE4 CZ CE3 gi_3
HE3 CP CZ CE3 gi_3
OM5 CD1 CZ CE4 gi_3
CZ CE3 CE4 OM4 gi_3

[ dihedrals ]
; ai aj ak al gromos type
O CO CG1 CM3 gd_48
O CO CG1 CM3 gd_49
CB CA CO O gd_52
CB CA CO O gd_53
CD1 CG2 CB CA gd_50
CD1 CG2 CB CA gd_51
CO CA CB CG2 gd_14 ;Double-
bond
CO CA CB CG2 gd_14 ;Double-
bond
ME1 OM1 CM1 CE1 gd_44
ME1 OM1 CM1 CE1 gd_45
ME2 OM2 CM2 CG1 gd_44
ME2 OM2 CM2 CG1 gd_45
ME3 OM3 CM3 CE2 gd_44
ME3 OM3 CM3 CE2 gd_45
ME4 OM4 CZ CE3 gd_44
ME4 OM4 CZ CE3 gd_45
ME5 OM5 CE4 CZ gd_44

```

```

ME5 OM5 CE4 CZ gd_45 CG1 HE2
ME6 OM6 CD1 CE4 gd_44 CG1 CM1
ME6 OM6 CD1 CE4 gd_45 CM2 CE2
                                CM2 OM1
                                OM2 CM3
                                OM2 HE1
                                OM2 CM1
                                CM3 CE1
                                CM3 OM1
                                CE1 HE2
                                HE1 CE2
                                HE1 OM1
                                HE2 OM1
                                CA CD1
                                CA CP
                                CB CE3
                                CB CE4
                                CB OP
                                CB HD1
                                CG2 HE3
                                CG2 HE4
                                CG2 CZ
                                CP HD1
                                CP CE4
                                CP HZ
                                OP CD1
                                OP HE3
                                OP CZ
                                CD1 CE3
                                CD1 HZ
                                HD1 HE4
                                HD1 CZ
                                CE3 HE4
                                HE3 CE4
                                HE3 HZ
                                HE4 HZ
; Compound 15
[CHC2]
[ atoms ]
CO C 0.32000 0
O O -0.32000 0
CG1 C -0.08000 0
CM2 C 0.25000 1
OM2 OA -0.55000 1
ME2 H 0.40000 1
CM3 C 0.23200 2
CE1 C -0.38000 1
HE1 HC 0.20000 1
CE2 C -0.24000 1
HE2 HC 0.16000 1
CM1 C 0.41000 1
OM1 OE -0.35000 1
ME1 CH3 0.18000 1
CA CR1 0.00000 3
CB CR1 0.00000 3
CG2 C -0.05000 4
CP C 0.25000 4
OP OA -0.55000 4
HP H 0.40000 4
CD1 C -0.12000 4
HD1 HC 0.12000 4
CE3 C -0.20000 4
HE3 HC 0.15000 4
CE4 C -0.12000 4
HE4 HC 0.12000 4
CZ C -0.12000 4
HZ HC 0.12000 4
[ bonds ]
CA CO gb_27
CO O gb_5
CG1 CO gb_27
CG1 CM2 gb_16
CG1 CM3 gb_16
CM2 OM2 gb_13
OM2 ME2 gb_1
CM2 CE1 gb_16
CM3 CE2 gb_16
CE1 HE1 gb_3
CE1 CM1 gb_16
CE2 HE2 gb_3
CE2 CM1 gb_16
CM1 OM1 gb_13
OM1 ME1 gb_13
CA CB gb_13
CB CG2 gb_27
CG2 CP gb_16
CG2 CD1 gb_16
CP OP gb_13
OP HP gb_1
CP CE3 gb_16
CD1 HD1 gb_3
CD1 CE4 gb_16
CE3 HE3 gb_3
CE3 CZ gb_16
CE4 HE4 gb_3
CE4 CZ gb_16
CZ HZ gb_3
[ angles ]
; ai aj ak gromos type
CO CA CB ga_27
O CO CA ga_33
O CO CG1 ga_33
CG1 CO CA ga_27
CO CG1 CM2 ga_25
CO CG1 CM3 ga_25
CM2 CG1 CM3 ga_27
CG1 CM2 CE1 ga_27
ME2 OM2 CM2 ga_12
OM2 CM2 CE1 ga_25
OM2 CM2 CG1 ga_25
CG1 CM3 CE2 ga_27
HD2 CM3 CE2 ga_25
CM2 CE1 HE1 ga_25
CM2 CE1 CM1 ga_27
HE1 CE1 CM1 ga_25
CM3 CE2 HE2 ga_25
CM3 CE2 CM1 ga_27
HE2 CE2 CM1 ga_25
CE1 CM1 CE2 ga_27
ME1 OM1 CM1 ga_12
OM1 CM1 CE1 ga_25
OM1 CM1 CE2 ga_25
CA CB CG2 ga_27
CB CG2 CP ga_27
CB CG2 CD1 ga_27
CP CG2 CD1 ga_27
CG2 CP OP ga_25
CG2 CP CE3 ga_27
OP CP CE3 ga_25
CP OP HP ga_12
CG2 CD1 HD1 ga_25
CG2 CD1 CE4 ga_27
HD1 CD1 CE4 ga_25
CP CE3 HE3 ga_25

```

```

CP      CE3      CZ      ga_27
HE3     CE3      CZ      ga_25
CD1     CE4      HE4      ga_25
CD1     CE4      CZ      ga_27
HE4     CE4      CZ      ga_25
CE3     CZ      CE4      ga_27
CE3     CZ      HZ      ga_25
CE4     CZ      HZ      ga_25
[ impropers ]
; ai  aj  ak  al  gromos type
  CO   O   CA  CG1  gi_3
  CO  CM3  CM2  CG1  gi_3
  CG1  CM2  CE1  CM1  gi_3
  CG1  CM3  CE2  CM1  gi_3
  CM2  CG1  CM3  CE2  gi_3
  CM2  CG1  CE1  OM2  gi_3
  CM2  CE1  CM1  CE2  gi_3
  CM3  CG1  CM2  CE1  gi_3
  CM3  CE2  CM1  CE1  gi_3
  HE1  CM2  CM1  CE1  gi_3
  HE2  CM3  CM1  CE2  gi_3
  CM1  CE1  CE2  OM1  gi_3
  CG2  CP   CD1  CB   gi_3
  CG2  CP   CE3  CZ   gi_3
  CG2  CD1  CE4  CZ   gi_3
  CP   CG2  CD1  CE4  gi_3
  CP   CG2  CE3  OP   gi_3
  CP   CE3  CZ   CE4  gi_3
  CD1  CG2  CP   CE3  gi_3
  CD1  CG2  CE4  HD1  gi_3
  CD1  CE4  CZ   CE3  gi_3
  HE3  CP   CZ   CE3  gi_3
  HE4  CD1  CZ   CE4  gi_3
  CZ   CE3  CE4  HZ   gi_3
  CM3  CE2  CG1  -O1  gi_3
[ dihedrals ]
; ai  aj  ak  al  gromos type
  O   CO  CG1  CM3  gd_48
  O   CO  CG1  CM3  gd_49
  CB  CA   CO   O   gd_52
  CB  CA   CO   O   gd_53
  CD1  CG2  CB   CA  gd_50
  CD1  CG2  CB   CA  gd_51
  CO   CA  CB   CG2  gd_14 ;Double-
    bond
  CO   CA  CB   CG2  gd_14 ;Double-
    bond
  HP   OP  CP   CG2  gd_46
  HP   OP  CP   CG2  gd_47
  ME1  OM1  CM1  CE1  gd_44
  ME1  OM1  CM1  CE1  gd_45
  ME2  OM2  CM2  CG1  gd_46
  ME2  OM2  CM2  CG1  gd_47
;Glucose compound 15
[ BGD3 ]
[ atoms ]
  C4  CH1  0.23200  0
  O4  OA  -0.64200  0
  HO4  H  0.41000  0
  C3  CH1  0.23200  1
  O3  OA  -0.64200  1
  HO3  H  0.41000  1
  C2  CH1  0.23200  2
  O2  OA  -0.64200  2
  HO2  H  0.41000  2
  C6  CH2  0.23200  3
  O6  OA  -0.64200  3
  HO6  H  0.41000  3
  C5  CH1  0.37600  4
  O5  OA  -0.48000  4
  C1  CH1  0.23200  4
  O1  OA  -0.36000  4
[ bonds ]
  C4   O4   gb_20
  O4   HO4  gb_1
  C4   C3   gb_26
  C4   C5   gb_26
  C3   O3   gb_20
  C3   C2   gb_26
  O3   HO3  gb_1
  C2   O2   gb_20
  C2   C1   gb_26
  O2   HO2  gb_1
  C6   O6   gb_20
  C6   C5   gb_26
  O6   HO6  gb_1
  C5   O5   gb_20
  O5   C1   gb_20
  C1   O1   gb_20
  O1  +CM3  gb_13
[ angles ]
; ai  aj  ak  gromos type
  HO4  O4  C4  ga_12
  O4   C4  C3  ga_9
  O4   C4  C5  ga_9
  C3   C4  C5  ga_8
  C4   C3  O3  ga_9
  C4   C3  C2  ga_8
  O3   C3  C2  ga_9
  C3   O3  HO3  ga_12
  C3   C2  O2  ga_9
  C3   C2  C1  ga_8
  O2   C2  C1  ga_9
  C2   O2  HO2  ga_12
  O6   C6  C5  ga_9
  C6   O6  HO6  ga_12
  C4   C5  C6  ga_8
  C4   C5  O5  ga_9
  C6   C5  O5  ga_9
  C5   O5  C1  ga_10
  C2   C1  O5  ga_9
  C2   C1  O1  ga_9
  O5   C1  O1  ga_9
  C1   O1  +CM3  ga_10
  O1  +CM3  +CE2  ga_25
  O1  +CM3  +CG1  ga_25
[ impropers ]
; ai  aj  ak  al  gromos type
  C4   C6  O5  C5  gi_2
  C3   O3  C2  C4  gi_2
  C5   O4  C3  C4  gi_2
  C1   C3  O2  C2  gi_2
  C2   O5  O1  C1  gi_2
[ dihedrals ]
; ai  aj  ak  al  gromos type
  HO4  O4  C4  C3  gd_30
  O4   C4  C3  O3  gd_18
  O4   C4  C3  C2  gd_54
  O4   C4  C3  C2  gd_55
  C5   C4  C3  O3  gd_54
  C5   C4  C3  O3  gd_55
  C5   C4  C3  C2  gd_34
  O4   C4  C5  C6  gd_54
  O4   C4  C5  C6  gd_55
  C3   C4  C5  C6  gd_34
  C3   C4  C5  O5  gd_54
  C3   C4  C5  O5  gd_55
  C2   C3  O3  HO3  gd_30
  C4   C3  C2  O2  gd_54
  C4   C3  C2  O2  gd_55
  C4   C3  C2  C1  gd_34
  O3   C3  C2  O2  gd_18
  O3   C3  C2  C1  gd_54
  O3   C3  C2  C1  gd_55
  C1   C2  O2  HO2  gd_30

```

C3	C2	C1	O5	gd_54	O6	C6	C5	O5	gd_37
C3	C2	C1	O5	gd_55	C4	C5	O5	C1	gd_29
C3	C2	C1	O1	gd_54	C5	O5	C1	C2	gd_29
C3	C2	C1	O1	gd_55	O5	C1	O1	+CM3	gd_2
O2	C2	C1	O1	gd_18	O5	C1	O1	+CM3	gd_32
C5	C6	O6	H06	gd_30	C1	O1	+CM3	+CE2	gd_29
O6	C6	C5	O5	gd_5					

CURRICULUM VITÆ

Curriculum Vitæ

I. Dados Pessoais

Nome:

Elisa Beatriz de Oliveira John

Endereço profissional:

Grupo de Bioinformática Estrutural

Laboratório 202 - Centro de Biotecnologia

Universidade Federal do Estado do Rio Grande do Sul

Avenida Bento Gonçalves, 9500 - Porto Alegre, RS, Brasil

CEP 91500 970

+55 51 33087770

E-mail:

elisajohn@live.com

elisa.john@ufrgs.br

II. Formação Acadêmica

Graduação em Biomedicina, pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul, de 2010/1 a 2014/2. *Biologia Estrutural de Prolil-4-hidroxilases*.

Orientador: Hugo Verli.

III. Trabalhos científicos apresentados em congressos (durante o período do mestrado)

a. Nacionais

John, E. O.; Arantes, P. R.; Verli, H. 2015. GROMOS 53A6 Force Field Parameters for Chalcones. *Rev. Inform. Teor. Apl. (Online)*. 1^a Escola Gaúcha de Bioinformática, 27 a 31 de julho de 2015, Porto Alegre, RS, Brasil.

John, E. O.; Arantes, P. R.; Verli, H. 2016. GROMOS 53A6 Force Field Parameters for Chalcones and Flavonoids. *Abstract Book of the 45th Annual Meeting of SBBq*. 45th Annual Meeting of SBBq, 18 a 21 de junho de 2016, Natal, RN, Brasil.

b. Internacionais

John, E. O.; Arantes, P. R.; Verli, H. 2015.

GROMOS 53A6 Force Field Parameters for Chalcones. *Abstract Book of the 23rd IUBMB Congress and 44th Annual Meeting of SBBq*. 23rd

IUBMB Congress and 44th Annual Meeting of SBBq, 24 a 28 de agosto de 2015, Foz do Iguaçu, PR, Brasil.

IV. Bolsa recebida

Bolsista CAPES do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular pelo Centro de Biotecnologia da UFRGS, a partir de março de 2015.