

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
CENTRO DE BIOTECNOLOGIA
CURSO DE BIOTECNOLOGIA - HABILITAÇÃO EM
BIOINFORMÁTICA

Rodolfo Brizola Toscan

Desenvolvimento de abordagem automatizada para
construção de banco de dados de preferências
conformacionais de carboidratos

Porto Alegre

2016

Rodolfo Brizola Toscan

**Desenvolvimento de abordagem automatizada
para construção de banco de dados de
preferências conformacionais de carboidratos**

Monografia submetida como requisito parcial ao Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul para obtenção de título de Bacharel em Biotecnologia com ênfase em Bioinformática.

Orientador: Hugo Verli

Coorientador: Márcio Dorn

Porto Alegre

2016

Toscan, Rodolfo Brizola

Desenvolvimento de abordagem automatizada para construção de banco de dados de preferências conformacionais de carboidratos/ Rodolfo Brizola Toscan. – Porto Alegre, 2016-
86 f.

Orientador: Hugo Verli
Coorientador: Márcio Dorn

” (Bacharel) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Centro de Biotecnologia do Estado do Rio Grande do Sul, Instituto de Biociências, Porto Alegre, BR-RS, 2016.

1. Carboidratos. 2. Bancos de Dados. 3. Dinâmica Molecular. 4. GROMOS. I. Verli, Hugo, orient. II. Título

Rodolfo Brizola Toscan

**Desenvolvimento de abordagem automatizada para
construção de banco de dados de preferências
conformacionais de carboidratos**

Monografia submetida como requisito parcial ao Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul para obtenção de título de Bacharel em Biotecnologia com ênfase em Bioinformática.

Banca Examinadora:

Prof. Hugo Verli
Orientador

Prof. Márcio Dorn
Coorientador

Cláudia Lemelle Fernandes
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Instituto de Biotecnologia

Laércio Pol Fachin
Universidade Federal de Pernambuco
Departamento de Química Fundamental

Porto Alegre, 27 de Setembro

2016

À minha família: o seu Volmir, a dona Mara e o Gui.

Agradecimentos

À minha família, fonte de infindável inspiração e exemplo, por serem meu refúgio e por acreditarem em mim, sempre.

À Karina, por fornecer apoio inesgotável e me revelar a felicidade verdadeira através das pequenas coisas, facilitando tudo.

Aos meus colegas do GBE, pela parceria e auxílio sempre: em especial aos meus amigos Conrado, Pablo e Rodrigo, essenciais no andamento desse trabalho e na escrita desta monografia.

Aos professores Hugo e Márcio, por aceitarem a orientação desse trabalho e por serem mais do que professores, mas verdadeiros mentores, me iluminando na minha trajetória.

"Phantasie ist wichtiger als Wissen denn Wissen ist begrenzt."

Albert Einstein

Resumo

Carboidratos são as moléculas mais abundantes na natureza. Constituídos, basicamente, por hidrogênio, oxigênio e carbono, numa razão aproximada de 2:1:1, estão intrinsecamente relacionados a uma miríade de funções biológicas. Interagindo como moeda energética metabólica e alicerce estrutural, também protagonizam em edições pós-traducionais de proteínas, modificando suas propriedades físico-químicas, padrões de enovelamento e, conseqüentemente, função protéica. Embora de suma importância, a compreensão das estruturas moleculares de sacarídeos é obscura devido a limitação dos métodos experimentais em detectar e resolver o espectro conformacional destas moléculas, dada a sua flexibilidade e riqueza de átomos de hidrogênio, produzindo imagens difusas e sem resolução. A estrutura molecular de polissacarídeos conta ainda com polimerização ramificada, diferentes tipos de ligação e isômeros ativos, corroborando em um objeto de pesquisa de alta complexidade. Considerando o exposto, o presente trabalho visa aplicar em larga escala uma metodologia previamente desenvolvida na UFRGS para explorar os padrões conformacionais de carboidratos, levando em conta diferentes unidades monoméricas (monossacarídeos) e suas formas anoméricas e diferentes tipos de ligação glicosídica, considerando sua flexibilidade. Espera-se, através destes métodos de simulação computacional baseados em Mecânica Molecular, alicerçar o desenvolvimento de um banco de dados de conformações preferenciais para carboidratos.

Palavras-chaves: Carboidratos. Campos de força. Bancos de Dados. Metadinâmica. Dinâmica Molecular. GROMOS. Automatização.

Abstract

Carbohydrates are the most abundant molecules in nature. Consisting basically of hydrogen, oxygen and carbon in a 2:1:1 ratio, they are intrinsically associated with a myriad of biological functions. Interplaying as energetic currency and structural scaffold, they also play the main role in post-translation protein editing, altering polypeptide's physical and chemical properties, folding patterns and, consequently, protein function. The understanding of their molecular structure is of paramount importance, yet its full comprehension is far from being achieved, for the experimental methods fail to access saccharides' conformational aspects and oscillatory features, due to the high presence of hydrogen in its molecular structure, yielding indistinct images of low resolution. Carbohydrates become even more complex if one considers their branching capabilities, optical isomers and different types of bonding, behaving as a remarkably complex subject of study. Considering the above mentioned, this work aims to apply in large scale the previously developed methodology at UFRGS, in order to unveil and unravel the conformational patterns of carbohydrates, taking into account its numerous monomeric unities (monossacharides) and anomeric forms and different glycosidic bondings, considering their dynamic properties. Hopefully, through methods of molecular mechanics-based computer simulation, this study proposes a consistent automated methodology, aiming to provide the foundations for the development of a data bank of conformational preferences of carbohydrates.

Keywords: Carbohydrates. Force field. Databank. Metadynamics. Molecular Dynamics. GROMOS. Automation.

Lista de ilustrações

Figura 1 – Caixa de solvatação com condições periódicas de contorno	19
Figura 2 – Explosão de um sistema não equilibrado	20
Figura 3 – Modificação de relevo energético através de MD	21
Figura 4 – Representação estrutural das moléculas de glicose e frutose.	23
Figura 5 – Diferentes isomerias para uma D-glicose.	24
Figura 6 – Formação de anel estrutural para monossacarídeos.	24
Figura 7 – Formação de uma maltose através de uma ligação glicosídica	26
Figura 9 – Mapa de contorno para um dissacarídeo	36
Figura 8 – Diagrama da metodologia empregada.	38
Figura 10 – Distribuição dos sistemas alvos de estudo, ao longo da metodologia	40
Figura 11 – Distribuição de Mínimos de Energia, separando tipos de ligação glicosídica	41
Figura 12 – Distribuição de Mínimos de Energia, separando tipos de ligação glicosídica e anomeria	42
Figura 13 – Distribuição de Mínimos de Energia Médio	45
Figura 14 – Refinamento de mínimos globais de dissacarídeos	47
Figura 15 – Refinamento de mínimos globais e locais de dissacarídeos	48
Figura 16 – Mapa Análogo a de Ramachandran para Dissacarídeos	51

Lista de tabelas

Tabela 1 – Representação molecular em coordenadas cartesianas	15
Tabela 2 – Representação molecular em coordenadas internas	15
Tabela 3 – Parâmetros para cálculo de energia para Mecânica Molecular. . . .	17
Tabela 4 – As oito D-aldohexoses abordadas neste estudo e suas formas anoméricas α e β	33
Tabela 5 – Tabela de valores ϕ e ψ médios para dissacarídeos estudados	46

Lista de abreviaturas e siglas

CF	Campo de Força
CEM	Confôrmero de Energia Mínima
CEMG	Confôrmero de Energia Mínima Global
CEML	Confôrmero de Energia Mínima Local
DM	Dinâmica Molecular
MD	Metadinâmica
MM	Mecânica Molecular
NOE	<i>Nuclear Overhauser Effect</i> (Efeito Nuclear de Overhauser)
PDB	<i>Protein Data Bank</i>
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
SI	Sistema Internacional de Medidas
VC	Variáveis Coletivas

Sumário

1	INTRODUÇÃO	14
1.1	Métodos Computacionais no Estudo de Biomoléculas	14
1.1.1	Representação	14
1.1.2	Mecânica Molecular	15
1.1.2.1	Campos de Força	16
1.1.2.2	Dinâmica Molecular	18
1.1.2.3	Considerações Prévias à Dinâmica Molecular	18
1.1.3	Metadinâmica	20
1.1.4	Automatização de Análises	21
1.2	Carboidratos	22
1.2.1	Monossacarídeos	23
1.2.2	Oligossacarídeos e Polissacarídeos	25
1.2.3	Gliconjugados e Glicosilação	26
1.3	Bancos de Dados de Carboidratos	28
2	JUSTIFICATIVA	30
3	OBJETIVOS	31
3.1	Objetivos Gerais	31
3.2	Objetivos Específicos	31
4	METODOLOGIA EMPREGADA	32
4.1	Estratégia, Nomenclatura e <i>Softwares</i> Utilizados	32
4.2	Sistemas Estudados	32
4.3	Simulações	34
4.3.1	Construção de Topologias	34
4.3.2	Preparo Pré-Dinâmicas Moleculares	34
4.3.3	Metadinâmica e Identificação de Confôrmeros de Menor Energia	34
4.3.4	Amostragem Conformacional para Quantificação Relativa de Estados Conformacionais	37
4.3.5	Automatização Utilizando <i>Scripts</i> em <i>Python</i>	37
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
5.1	Otimização Através de Automatização	40
5.2	Preferências Conformacionais Obtidas Após Metadinâmica	40

5.3	Abundância Relativa Após Refinamento por DM	46
5.3.1	Interconversões Entre Mínimos após DM	46
5.3.2	Convergência de Mínimos Locais de Energia	49
5.3.3	Reavaliação de SD	50
5.3.4	Mapa de Ramachandran para Dissacarídeos	50
6	CONCLUSÕES	52
7	PERSPECTIVAS	53
	REFERÊNCIAS	54
8	APÊNDICE	59
8.1	Estruturas e Ângulos Diedrais	
	de Menor Energia	59
8.1.1	Resultados para Metadinâmica	59
8.1.2	Resultados para Dinâmica Molecular (Refinamento)	68
8.2	Mapas de Distribuição Energética por MD dos Dissacarídeos Es-	
	tudados	71

1 Introdução

1.1 Métodos Computacionais no Estudo de Biomoléculas

Obter e interpretar informações estruturais de biomoléculas é fundamental quando queremos compreender fenômenos biológicos. As macromoléculas biológicas, incluindo ácidos nucleicos, proteínas, carboidratos e membranas biológicas - compostas por uma miscelânea de biomoléculas - são diferentes, em escala atômica e molecular [1]. Portanto, métodos de identificação para cada um desses tipos de informação biológica foram desenvolvidos e são hoje empregados: cristalografia de raio-X e ressonância magnética nuclear (RMN), por exemplo, são amplamente utilizados. Sua aplicação, no entanto, para estruturas de carboidratos é limitada [2]. A flexibilidade de oligo e polissacarídeos é elevada, de modo que a resolução de sua densidade eletrônica seja baixa na análise de cristalografia por raio-X e os sinais de NOE (*Nuclear Overhauser Effect*) de difícil resolução em análises de RMN, resultando em estruturas incompletas ou disformes [3]. Métodos computacionais emergem, então, como uma abordagem alternativa, simulando sistemas biológicos, acessando informações em escalas de espaço e tempo muito pequenos, inacessíveis por métodos experimentais.

1.1.1 Representação

As propriedades tridimensionais de moléculas são representadas por um sistema de coordenadas geográficas e, então, transpostas para uma forma gráfica, para uma maior compreensão visual, tal que átomos e ligações covalentes sejam considerados. As posições espaciais destes são descritas por coordenadas cartesianas ou internas. Coordenadas cartesianas são armazenadas de forma intuitiva, em uma lista de tipo número, átomo e posições x, y e z, relativas a origem do eixo de coordenadas (Tabela 1). Coordenadas internas, por outro lado, representam as posições internas do átomos relativas a um ponto absoluto centrado em algum átomo do sistema (Ver Tabela 2) [4]. Embora estes dois modos de representação possam ser convertidos entre si, em estudos envolvendo a interação entre moléculas dinâmicas, por motivos de praticidade, as coordenadas cartesianas são preferidas. No sistema de coordenadas internas, uma mudança na posição espacial de um átomo reflete em uma modificação na posição espacial dos átomos relativos a esta posição, pois cada átomo está posicionado relativamente ao seu antecedente, em uma ordem previamente estabelecida, levando a um dispêndio de cálculo computacional desnecessário. No sistema de coordenadas cartesianas, no

entanto, cada átomo tem a sua posição independente, relativa a um eixo de coordenadas fixo, sendo mais prático para análises de Dinâmica Molecular (DM), por exemplo, já que atualizações de posições espaciais atômicas podem ser feitas individualmente. Adicionalmente, a propriedade de conectividade, adicional ao sistema de coordenadas internas, que descreve se um átomo está conectado a outro por ligações covalentes, pode ser facilmente integrado ao sistema cartesiano (Ver Tabela 1). Apesar de não pertencer ao Sistema Internacional de Medidas (SI), utilizamos o Ângstrom (Å) como medida de distância interatômica.

1	O	1	1	1	1
2	H	1	1.75	1.00	1.50
3	H	1	1.75	1.00	0.50

Tabela 1 – Coordenadas cartesianas para uma molécula de água. Cada linha representa um átomo. As colunas 1 e 2 especificam o número e o tipo do átomo. A coluna 3 especifica a qual conjunto molecular este átomo pertence. As colunas 4, 5 e 6 descrevem as posições espaciais cartesianas, nesta ordem, de x , y e z .

1	C						
2	C	1.54	1				
3	H	1.0	1	109.5	2		
4	H	1.0	2	109.5	1	180.0	3
5	H	1.0	1	109.5	2	60.0	4
6	H	1.0	2	109.5	1	-60.0	5
7	H	1.0	1	109.5	2	180	6
8	H	1.0	2	109.5	1	60	7

Tabela 2 – Coordenadas internas para uma molécula de etano. Cada linha representa um átomo. As colunas 1 e 2 são o número e o tipo do átomo, respectivamente. O átomo 1 é definido como referência. O átomo 2 está a 1.54 Å de distância do átomo 1 (Coluna 3 e 4). O átomo 3 está a 1 Å de 1. O ângulo formado entre os átomos 2-1-3 é 109.5°, especificado em colunas 5 e 6. O quarto átomo, está a 1 Å do átomo 2. O ângulo 4-2-1 é de 109.5° e o ângulo de torção 4-2-1-3, calculado entre os planos estabelecidos pelos planos 1-2-3 e 1-2-4, é de 180° (Coluna 8). Extraído de [4].

1.1.2 Mecânica Molecular

Dentre os métodos computacionais desenvolvidos para o estudo de sistemas biológicos destaca-se a Mecânica Molecular (MM), amplamente utilizada no estudo de comportamento protéico em análises de seu enovelamento, atracamento molecular e em simulação de proteínas membranares. Baseada nos avanços no campo da Física desenvolvidos entre os séculos 17 e 19 por estudiosos como Newton, Lagrange e Hamilton, onde conceitos de força, movimento e energia foram desenvolvidos, este método

representa cada átomo de um sistema atribuindo a este uma massa M (obtida na tabela periódica), tamanho R (delimitado pelo raio de densidade eletrônica de van der Waals) e carga C (dado pela energia Coulômbica associada a este átomo) [4]. O potencial de interação P entre átomos, utilizado como referência na obtenção de estruturas estáveis, de menor energia, é dado pelo potencial de Potencial de Lennard-Jones. Este é calculado através de equações que descrevem a conectividade entre átomos, dada as suas distâncias interatômicas e raios de van der Waals, descritas no campo-de-força, abordado a seguir.

1.1.2.1 Campos de Força

Campos de força são empregados no estudo de sistemas moleculares. Podendo ser aplicados a sistemas biológicos, descrevem o comportamento de biomoléculas dentro dos parâmetros propostos pela *Mécanica Clássica*. Para tanto, propriedades intrinsecamente biomoleculares devem ser consideradas, como estiramento de ligações covalentes, flexão de ângulos e termos torsionais. Estas características devem constar nas equações de parametrização, que constituem os campos de força (CF). As equações a seguir (Equações 1.1 e 1.2), extraídas de [4] descrevem um campo de força genérico, considerando forças de interação intra e intermoleculares, para os termos descritos na Tabela 3.

$$\begin{aligned}
 E_{intramolecular} = & \sum_{\text{ligações}} K_b(b - b_0)^2 - \sum_{\text{ângulos}} K_\theta(\theta - \theta_0)^2 \\
 & + \sum_{\substack{\text{diedros} \\ \text{impróprios}}} K_\varphi(\varphi - \varphi_0)^2 + \sum_{n=1}^6 \sum K_{\phi, n}(1 + \cos(n\phi - \delta_n))
 \end{aligned} \tag{1.1}$$

$$\begin{aligned}
 E_{intermolecular} = & \sum_{\substack{\text{pares } i, j \\ \text{não ligados}}} \frac{q_i, q_j}{4\pi D r_{ij}} + \\
 & \sum_{\substack{\text{pares } i, j \\ \text{não ligados}}} \varepsilon_{ij} \left[\left(\frac{R_{min, ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - 2 \left(\frac{R_{min, ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right]
 \end{aligned} \tag{1.2}$$

Símbolos	Significado
b_0	Coefficiente para comprimento de ligação
K_b	Constante de força de ligação
θ_0	Referência para ângulo de valência
K_θ	Constante de ângulo de força
ϕ_0	Valor de referência para ângulos diedros impróprios (geralmente 0)
K_ϕ	Consante de força para diedros impróprios
n	Multiplicidade de diedrais
δ_n	Fase de diedro
$K_\phi n$	Multiplicidade diedral
q_i, q_j	Cargas parciais
$R_{\min, ij}$	Raio de Lennard-Jones
ε_{ij}	Profundida de poço potencial de Lennard-Jones

Tabela 3 – Parâmetros para cálculo de energia para mecânica molecular.

A utilização de um ou outro CF é dependente de alguns fatores, como descrição de solvatação e complexidade de representação do sistema em análise, por exemplo. A descrição das moléculas do meio aquoso pode ser explícita, representando todas as moléculas de água, ou implícita, considerando suas propriedades dielétricas e influência no ambiente molecular. Enquanto alguns campos de força descrevem todos os átomos do sistema, outros optam por simplificações. Existem, portanto, três níveis de representação, em ordem decrescente de demanda computacional e proporcionalmente minguante em riqueza descritiva. Os campos de força *all atom* (todos-átomos) descrevem todos os átomos do sistema. Com grande capacidade descritiva, exige alto poder computacional. Os campos de força *united atom* (átomo-unido) simplificam alguns grupos de átomos, colapsando-os em pseudoátomos, ajustando seu tamanho, massa e carga. Normalmente efetuada a fim de eliminar a representação explícita de hidrogênios apolares do sistema, diminuindo a demanda computacional, simplificando o cálculo. Um terceiro tipo, o *coarse-grained* (granuloso), simplifica moléculas inteiras, como aminoácidos, em uma representação globular única, conferindo velocidade e permitindo observar movimentos de grandes proporções às custas da perda quase total de detalhamento atômico [4, 5].

Existem, hoje, diferentes CF com suas respectivas equações e parametrizações trazendo, consigo, vantagens e desvantagens [6–9]. De fundamental importância para este trabalho destaca-se o campo de força GROMOS 53A6_{GLYC}, desenvolvido pelo nosso grupo de pesquisa [10], que permite uma descrição apropriada de conformações estáveis para monossacarídeos de estrutura aldohexopiranosídica em simulações em meio aquoso descritos de forma explícita.

1.1.2.2 Dinâmica Molecular

A DM é um método **determinístico** de simulação, isto é, qualquer estado subsequente pode ser previsto a partir do estado inicial, a partir de uma coleção de regras que, no caso, são determinadas pelo CF. A DM surge como uma aplicação da MM, quando buscamos compreender o movimento molecular dentro de um dado intervalo de tempo, *i.e.*, as forças interatômicas submetem as partículas a uma aceleração (Ver Equação 1.3, onde o movimento de uma partícula de massa m_i , ao longo do eixo de coordenada x com F_{i_x} sendo uma força aplicada na partícula, na mesma direção é descrito), permitindo a avaliação da natureza dinâmica de um sistema composto por múltiplas partículas moleculares. Geralmente confrontada com dados experimentais de cristalografia de raios-X e RMN, buscando a maior fidedignidade possível, utiliza a **Energia** como critério na obtenção de estruturas moleculares e simulação de processos biológicos complexos ao longo do tempo. Em sistemas biológicos, inerentemente entrópicos, há uma tendência de formação e conservação de estruturas de menor energia livre, logo, a minimização da função de energia das forças intra e intermoleculares (Ver Equações 1.1 e 1.2) são utilizadas na obtenção de tendências conformacionais de biomoléculas na natureza [11]. Exemplos de análises que podem ser feitas incluem a orientação de cadeias laterais em polipeptídeos, interação entre moléculas e, como explorado neste trabalho, conformação de moléculas em meio aquoso.

$$\frac{d^2x_i}{dx^2} = \frac{F_{x_i}}{m_i} \quad (1.3)$$

1.1.2.3 Considerações Prévias à Dinâmica Molecular

Além do tipo de representação das moléculas em estudo e do meio aquoso, alguns fatores devem ser ressaltados:

O número de moléculas de água necessário para solvatar a(s) molécula(s) em estudo irá depender tanto do tamanho, como da complexidade da análise a ser realizada. Para isto, defini-se uma **caixa** em que soluto e solvente estejam inseridos. O formato da caixa é arbitrário, podendo ser esférica, cúbica, octaédrica, etc., buscando melhor adaptar o soluto, minimizando o número de moléculas de solvente. Buscando otimizar o cálculo computacional, diminuindo ao máximo o número de moléculas de solvente, mantendo suas propriedades de solvatação, utiliza-se uma estratégia denominada **condições periódicas de contorno** [5]. Este método consiste em replicar a caixa em todas as dimensões, de forma periódica, adjacente à caixa central. A configuração molecular destas caixas é idêntica, de modo que o que

sai de um lado da caixa central, entra pelo lado exatamente oposto, mantendo o número de moléculas constante (Figura 1).

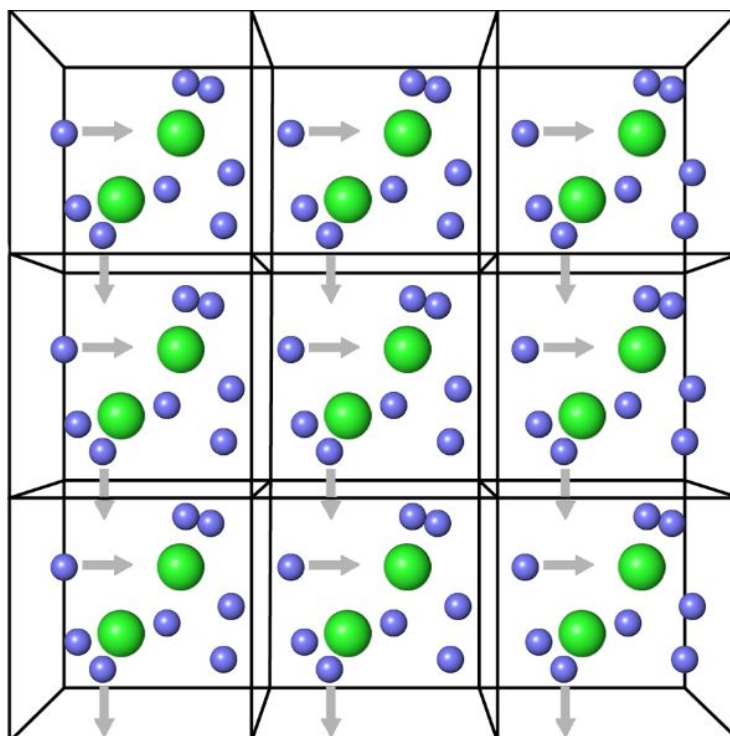


Figura 1 – Caixa do tipo cúbica. O soluto se encontra na caixa central. As moléculas que saem para a caixa da esquerda, por exemplo, entram pela direita, com mesmo momento de inércia e posição espacial. Extraído de [5].

Muitos ambientes de simulação molecular são construídos utilizando sólidos cristalizados como referência. As configurações de um estado sólido não correspondem a um ambiente aquoso e a distribuição das moléculas pode conter algumas inconsistências, tal como a distância interatômica, que em líquidos é muito maior, acarretando a um aumento na energia do sistema, levando a problemas na simulação (Ver Figura 2). Para contornar este problema, uma etapa de **minimização de energia** se faz necessária [4]. Este procedimento permite que o solvente se posicione ao redor do soluto, mantendo graus de liberdade como temperatura, volume e pressão flexíveis.

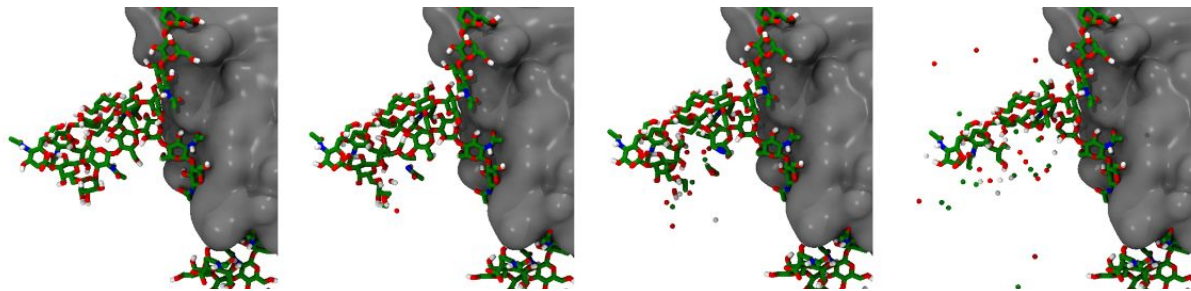


Figura 2 – A má disposição do meio aquoso pode levar a uma explosão. No exemplo, o hidrogênio de uma molécula água estava muito próximo de um hidrogênio de uma cadeia lateral do polipeptídeo, levando a uma explosão na simulação. Extraído de [5].

1.1.3 Metadinâmica

Embora a DM seja utilizada na simulação de proteínas, reações químicas ou mudanças sutis de conformação molecular em solução, ainda é limitada em alguns aspectos [12]. Sua amostragem (tempo de simulação), por exemplo, deve ser grande o bastante para visitar todas configurações relevantes do sistema. Além disso, frequentemente configurações de baixa energia estão cercadas por barreiras energéticas de difícil acesso, dependendo somente de eventuais flutuações de DM, enclausurando a simulação em mínimos locais de Energia. Abordagens alternativas modificando o processo de DM foram desenvolvidas, incluindo DM Dirigida (*Steered Molecular Dynamics*), Elevação Local (*Local Elevation*) e Inundação Conformacional (*Conformational Flooding*) [13–16]. A Metadinâmica (MD) surge como uma alternativa, empregando um **Potencial de Enviesamento** na simulação, de modo a escapar de mínimos locais [17]. Ao modo que a simulação de DM explora o espaço conformacional, variáveis coletivas (VC) são coletadas. Estas VCs representam estados conformacionais de energia calculável e podem ser utilizadas em uma representação gráfica. Enquanto a DM tende a ficar aprisionada em vales (mínimos locais de energia), a MD modifica a paisagem energética ditada por estes mínimos de energia, adicionando um potencial Gaussiano positivo aos mínimos locais, desencorajando o sistema de simulação a aprisionar-se a esses mínimos locais novamente (Ver Figura 3).

Seja S um conjunto de d funções microscópicas de R de um sistema

$$S(R) = S_1(R), \dots, S_d(R) \quad (1.4)$$

No tempo t , o Potencial de Enviesamento V_G é descrito a seguir, nas Equações 1.5 e 1.6:

$$V_G(S, t) = \int_0^t dt' w \exp\left(-\sum_{i=1}^d \frac{(S_i(R) - S_i(R(t')))^2}{2\sigma_i^2}\right) \quad (1.5)$$

Tal que o w é o coeficiente de energia e σ_i é a largura da adição Gaussiana do i -centésimo VC. σ_i é constante e é geralmente expresso em termos de altura Gaussiana W e fator de deposição τ_G :

$$\omega = \frac{W}{\tau_G} \quad (1.6)$$

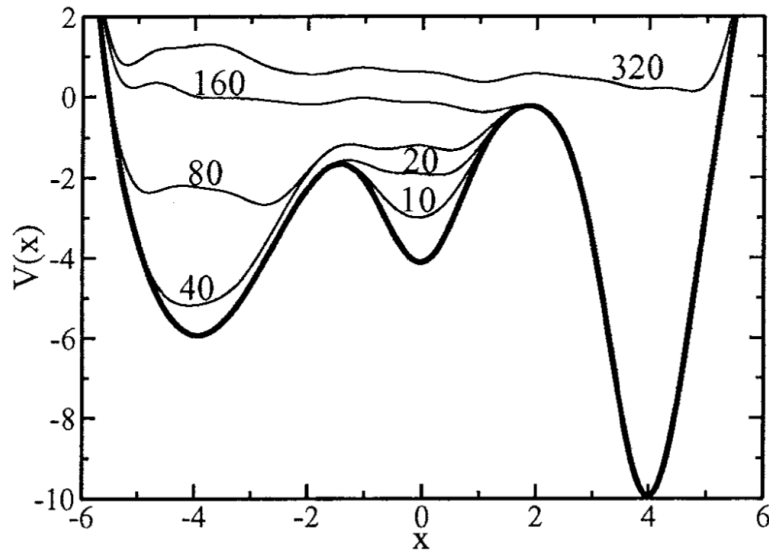


Figura 3 – O esquema representa a distribuição energética ao longo do eixo de coordenadas x . VCs de interesse correspondem aos três mínimos de energia. A simulação inicia no mínimo central. As sucessivas adições gaussianas ao longo do tempo permitem que o sistema explore todo o horizonte energético. Ao tempo $t = 20$, a simulação abandona o mínimo central e em $t = 160$, acessa o mínimo global do sistema. Extraído de [17].

1.1.4 Automatização de Análises

A execução de análises *in silico* traz consigo novas perspectivas e benefícios. Os *scripts*, roteiros escritos de forma sistemática e organizada geram um resultado inerente (*output*) a um dado de entrada específico (*input*). Os *scripts* são constituídos de rotinas e subrotinas, instruções que efetuam comandos de manipulação nos dados *input*. A aplicação de estruturas de repetição (*loops*) permite a iteração de um conjunto arbitrário

de comandos de forma finita, tal que um número de repetições seja alcançado ou que alguma condição pré-estabelecida seja satisfeita. *Scripts* construídos de forma robusta podem executar comandos de execução envolvendo *softwares* secundários, em série ou em paralelo [18], dando forma aos *workflows* [19] que, em bioinformática, apresentam grandes vantagens:

1. Qualquer análise efetuada de forma repetitiva e sistemática está sujeita a erros do usuário que a executa. A criação de um *script* consistente elimina este problema, pois as ordens contidas dentro da estrutura de repetição são inalteradas até segunda ordem, aumentando a **consistência** da análise;
2. A **reprodutibilidade** é reforçada. Uma vez escritas, as subrotinas têm seus resultados previsíveis e podem ser reproduzidos em qualquer ambiente computacional, dados os mesmos *inputs*;
3. Utilizando *flags* e *counters*, indicadores qualitativos ou quantitativos, pode-se ter o **controle** sobre andamento do processo, indicando em que etapa a análise se encontra, quais eventuais erros ocorreram e o que esperar no *output*;
4. O *script* pode ser decomposto em *subscripts*, e seu **reuso** é possível em outros *workflows* com uma ou mais subrotinas em comum;
5. Etapas que eram dependentes de interação com o usuário, como manipulação, análise e edição de arquivos texto, são substituídas por comandos automatizados, aumentando significativamente a **velocidade** do procedimento como um todo.

1.2 Carboidratos

Carboidratos são as moléculas mais abundantes na natureza. Geralmente constituídos de uma razão aproximada de 2:1:1 de hidrogênio, oxigênio e carbono, estão intrinsecamente relacionados a uma miríade de funções biológicas. O termo “carboidrato” inclui monossacarídeos, oligossacarídeos, polissacarídeos e outras substâncias derivadas de monossacarídeos [20]. Atuando como protagonistas no metabolismo energético e como alicerces estruturais celulares, também coadjuvam funções de adesão e reconhecimento celular. Adicionalmente, estão envolvidos no processo de glicosilação, processo de alteração pós-traducional de proteínas, modificando suas propriedades físico-químicas, padrões de enovelamento e, conseqüentemente, função proteica [21]. Nas seções a seguir, a constituição e complexidade molecular de carboidratos será apresentada e, por fim, sua interação com outros tipos moleculares será apontada.

1.2.1 Monossacarídeos

Incolores, sólidos, solúveis em água e normalmente envolvidos com o metabolismo energético celular, os monossacarídeos, unidades monoméricas que constituem os carboidratos compostos, consistem em uma cadeia carbônica não ramificada com múltiplas hidroxilas anexadas; possuem de 3 a 7 carbonos em sua estrutura, denominando-se portanto, na seguinte ordem, trioses, tetroses, pentoses, hexoses e heptoses. Pentoses e hexoses, de destacada importância neste trabalho, podem ser referidas como furanoses e piranoses, respectivamente, por assemelharem-se às estruturas dos compostos de Furano e Pirano, respectivamente. A depender da posição da carbonila na cadeia carbônica, os monossacarídeos dividem-se em aldoses ou cetoses, e podem ser representados em uma projeção de Fischer, tal que os átomos da cadeia carbônica são numerados em forma crescente, começando pela extremidade mais próxima à carbonila [21] (Figura 4).

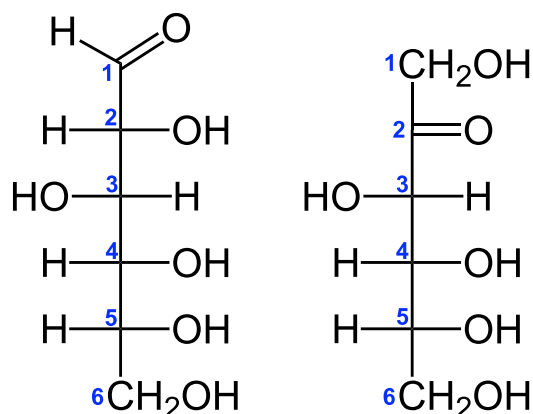


Figura 4 – Glicose e frutose: uma cetose e uma aldose respectivamente. Com o mesmo tamanho de cadeia carbônica, diferenciam-se apenas na posição da carbonila, sendo no carbono 1 para a glicose e no carbono 2 para a frutose, conferindo diferenças funcionais entre as duas moléculas. Extraída de [22].

Exceto pela diidroxiacetona, possuem ao menos um carbono assimétrico (quiral) em sua estrutura, conferindo enantiomeria aos compostos sacarídicos. Adicionalmente, pentoses, hexoses e heptoses, devido ao seu tamanho, apresentam uma tendência reacional entre os grupos carbonila e o álcool, nas extremidades da cadeia, estabelecendo uma predominância de estruturas cíclicas em meios aquosos (Figura 6). Tal reação leva à formação de grupos hemiacetais ou hemicetais, adicionando mais um carbono assimétrico, denominado anomérico, à estrutura, gerando dois enantiômeros possíveis, denominados α e β (Figura 5). A denominação α e β faz referência à posição relativa da hidroxila ligada ao carbono anomérico em relação ao carbono assimétrico mais longínquo do mesmo: caso as hidroxilas de ambos os carbonos em questão se encontrem do mesmo lado do plano determinado pelo anel, denomina-se α , caso contrário, denomina-se β .

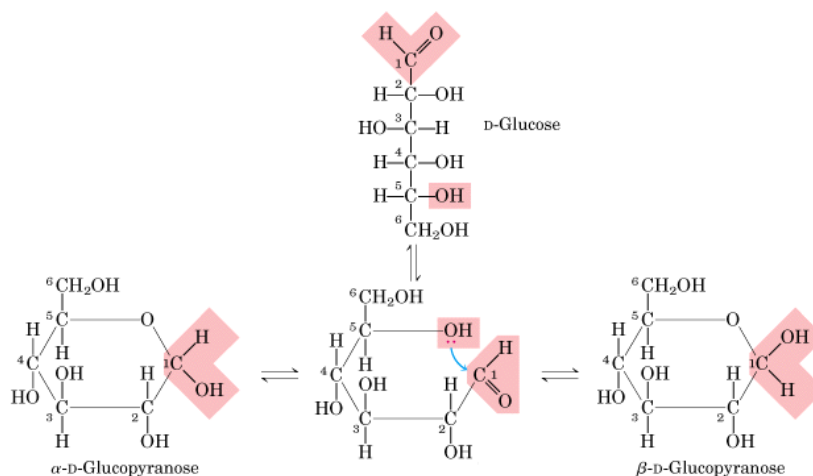


Figura 5 – Geração de duas formas cíclicas de D-glicose. α e β podem interconverter-se pelo processo denominado mutarotação. Extraído e adaptado de [21].

De modo análogo, os isômeros gerados a partir da configuração rotacional do carbono assimétrico mais longínquo da carbonila na molécula são denominados D ou L. Em uma projeção de Fischer, quando a hidroxila do carbono em questão é desenhada à direita da cadeia carbônica, têm-se um isômero D, caso esteja desenhada à esquerda, têm-se um isômero L. De acentuada importância para este trabalho, é importante ressaltar que a grande maioria das hexoses encontradas na natureza são de isomeria do tipo D [23].

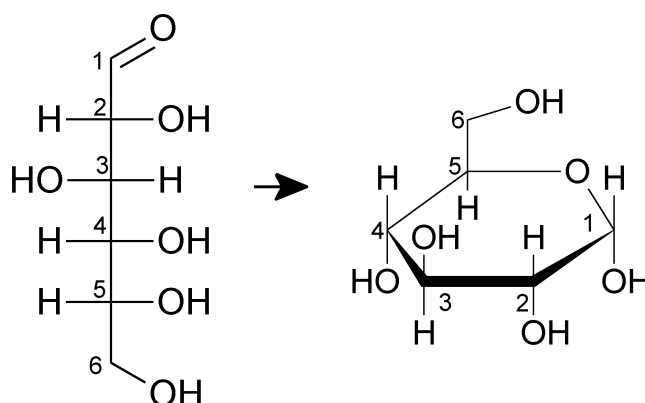


Figura 6 – Formação de anel para uma molécula de glicose: A hidroxila ligada ao carbono número 5 reage com o grupo aldeídico do carbono 1, formando um carbono anomérico. Extraído e modificado de [24].

1.2.2 Oligossacarídeos e Polissacarídeos

Quando o carbono anomérico de um monossacarídeo reage com uma hidroxila de outro monossacarídeo, estes unem-se através de uma ligação glicosídica (Figura 7). Monossacarídeos podem utilizar suas múltiplas hidroxilas para unir-se com outros monossacarídeos, simultaneamente, gerando compostos não-lineares, de alta complexidade, contrastando com a linearidade esperada quando observamos polipeptídeos [25]. Estes compostos, poli-hidroxi-aldeídos e/ou poli-hidroxi-cetonas, estão divididos em oligossacarídeos e polissacarídeos, de acordo com seu tamanho relativo. Carboidratos resultantes da ligação de até 20 monossacarídeos são denominados oligossacarídeos e, acima deste número, denominam-se polissacarídeos [21].

A maioria dos carboidratos encontrados na natureza são encontrados como polímeros de médio ou alto peso molecular, ou seja, polissacarídeos. Ora constituídos de um mesmo monossacarídeo de forma repetida e sistemática, denominados homopolissacarídeos, ora complexos, compostos por múltiplos tipos de monômeros, os heteropolissacarídeos [23]. Os oligo e polissacarídeos diferem-se amplamente pelos tipos de sacarídeos utilizados, padrões de ramificação, ligação e comprimento de suas cadeias, atuando de diferentes formas na natureza, cumprindo múltiplas funções [26]. Homopolissacarídeos são utilizados como armazenamento de combustível energético, como o glicogênio no músculo animal e amido, reservatório energético em vegetais e ubíquo na dieta de mamíferos. Como alicerce estrutural, apresentam-se na forma celulose e quitina, por exemplo, contidos na parede celular vegetal e no exoesqueleto de artrópodes, respectivamente. Os heteropolissacarídeos provêm suporte extracelular para organismos de todos os reinos. Constituindo a camada rígida da parede celular bacteriana, o peptídeoglicano, onde resíduos alternados de *N*-acetilglicosamina e ácido *N*-acetilmurâmico, unidos por ligações ($\beta 1 \rightarrow 4$) encontram-se lado a lado, conectados por peptídeos curtos, tal que a estrutura é um polímero de configuração característica para cada espécie de bactéria. Adicionalmente, os heteropolissacarídeos estão vinculados a atividades mais dinâmicas e de maior complexidade, tal como os glicosaminoglicanos (GAGs), envolvidos em processos de glicosilação protéica como, por exemplo, o fenômeno de edição pós-traducional. Este, amplamente estudado [21, 27, 28].

Diferentemente dos polipeptídeos, que podem ser deduzidos a partir de um molde de mRNA, a inferência da composição de um polissacarídeo não é tão simples: sua formação é dependente da especificidade e concentração das enzimas envolvidas, que por sua vez são dependentes dos níveis epigenéticos de expressão, relativos para cada tipo celular, tornando sua formação, constituição e arranjo de difícil dedução [28–30].

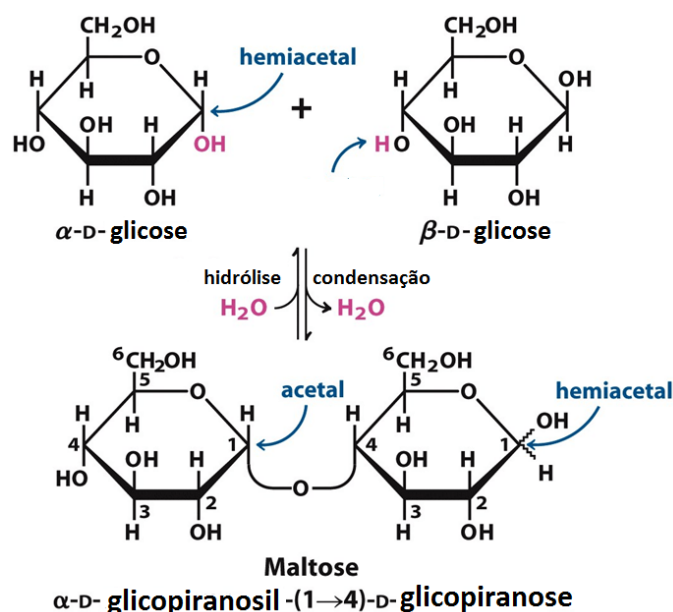


Figura 7 – Formação da maltose. A hidroxila do carbono 1 da molécula de α -D-glicose reage com a hidroxila do carbono 4 da molécula de β -D-glicose. Extraído e adaptado de [21].

1.2.3 Gliconjugados e Glicosilação

Quando um carboidrato se liga covalentemente a uma proteína ou lipídeo, tem-se um gliconjugado. O processo pelo qual um carboidrato se liga a um lipídeo, proteína ou outros compostos é denominado glicosilação. Embora cinco tipos de glicosilação sejam descritos na natureza e já tenham sido abordadas pelo nosso grupo de pesquisa [31–33], dois ocorrem com destacada frequência [21, 23, 25]:

- N-ligadas: Quando o carbono anomérico estabelece uma ligação N-glicosídica com um nitrogênio amídico de uma Asn (asparagina);
- O-ligadas: Quando o carbono anomérico estabelece uma ligação glicosídica com uma hidroxila de uma Ser (serina), Thr (treonina) ou OH-Lys (hidroxilisina);

Os gliconjugados podem ser, então, divididos nas seguintes classes [21]:

Proteoglicanos são macromoléculas encontradas na superfície celular ou na matriz extracelular, na qual uma ou mais cadeias de glicosaminoglicanos sulfatados estão ligadas a uma proteína de membrana ou proteína secretada.

Glicoproteínas consistem de proteínas covalentemente ligadas a carboidratos, por meio de glicosilação. São comumente encontradas na membrana plasmática (glicocálice), matriz extracelular e no sangue. Cerca de dois terços das proteínas

traduzidas pelo genoma humano são glicosiladas, de modo que as glicoproteínas estão presentes no sistema imune, envolvidas na produção de anticorpos (imunoglobulinas) e moléculas pertencentes ao Complexo Principal de Histocompatibilidade, coordenando a resposta imune. Atuam também no sistema endócrino, estando presente em hormônios gonadotróficos, como o FSH (hormônio folículo estimulante) e LH (hormônio luteinizante) e outros hormônios de alta importância como o TSH (hormônio estimulante da tireóide) e Eritropoietina, este último, protagonista na produção de hemácias. A porção sacarídica das glicoproteínas é altamente heterogênea, formando sítios de ligação para carboidratos, por meio de lectinas [21].

Glicolipídeos são lipídeos anfipáticos, contendo uma porção hidrofílica, polar - constituída por carboidratos - e uma porção hidrofóbica - dada por sua parte lipídica. Dentre outros tipos, destacam-se entre os glicolipídeos, os esfingolipídeos e os gangliosídeos atuando na condução nervosa e formação da mielina e no reconhecimento e comunicação intercelular, respectivamente [25].

Uma série de fatores podem influenciar os padrões de glicosilação em moléculas [27], como veremos a seguir:

A estrutura primária do polipeptídeo determina o número e localização de sítios potenciais de glicosilação. Os dois tipos mais comuns de glicosilação (O- e N-ligados) são determinados pela sequência peptídica da proteína glicosilada. Embora não seja garantia de glicosilação, uma subsequência de Asn-X-Ser deve estar contida no polipeptídeo - tal que X seja qualquer aminoácido, exceto prolina - para que este seja N-glicosilado.

O tipo celular influencia na glicosilação. Normalmente, várias reações são necessárias no processamento de uma glicosilação, envolvendo, portanto, várias enzimas. Cada uma dessas reações pode não ocorrer até o fim, levando a um espectro de diferentes *glicofomas* e variantes de glicosilação possíveis, característicos da expressão gênica de cada tipo celular.

A estrutura terciária influencia na extensão e tipo de glicosilação. Sítios de N-glicosilação contidos em folhas β -pragueadas são menos suscetíveis a glicosilação, comparados a regiões C-terminais - sítios específicos com maior afinidade de glicosiltransferases. A formação de oligômeros por peptídeos reduz a suscetibilidade destes à glicosilação, já que restringe a superfície à reação de glicosídica.

1.3 Bancos de Dados de Carboidratos

Nas últimas décadas, uma série de bancos de dados de carboidratos foram instaurados, ora por iniciativa privada, ora pela comunidade científica [34]:

- O CCSD (*Complex Carbohydrate Structure Database*), apresentou-se como o pioneiro, sendo alimentado pelo sistema de manutenção PC/AT *CarbBank*. Fundado pela Universidade de Georgia, oferecia informações como estrutura primária, citação contendo fonte de publicação e texto suplementar acerca de cada carboidrato inserido. Fundado em 1989 e tendo seu fomento cessado em 1997, abriu espaço para outros bancos de dados de carboidratos [35].
- *Glycosciences.de* surgiu em 1990 no Grupo de Pesquisa em Câncer Alemão (*Deutsches Krebsforschungszentrum*), em Heidelberg, e consolidou-se em 2005 [36]. Hoje conta com algumas ferramentas de detecção, validação de estruturas de carboidratos e análises estatísticas e construção de sacarídeos em formato de PDB (*Protein Data Bank*).
- KEGG-Glycan [37] foi estabelecido em 2005 como uma extensão de KEGG (*Kyoto Encyclopedia at Genes and Genomes*), reunindo uma coleção de mais de onze mil estruturas obtidas experimentalmente, apresentando rotas metabólicas envolvendo glicanos e algumas ferramentas de manipulação e alinhamento de estruturas de carboidratos, KegDraw e KegCam, respectivamente [38].
- Fomentado por iniciativa privada, o *GlycoSuiteDB* iniciou em 1999 um banco de dados curado de glicanos envolvidos em glicoconjugação [39]. Enfatizado em carboidratos envolvidos em processos de glicosilação, hoje denominado *Uni-CarbKB*, reúne 3238 estruturas provenientes de GlycoSuite e 899 estruturas de glicoproteínas.

Grandes esforços tem sido feitos para reunir, organizar, classificar e disponibilizar estas estruturas, oferecendo ferramentas secundárias que permitam empregar a informação, em grande parte bidimensional, a respeito das estruturas glicosídicas em análises tridimensionais. De interesse especial no presente trabalho, a construção de modelos estruturais precisos de glicanas associadas a proteínas no processo de glicosilação é especialmente desafiadora. Ferramentas atuais, como as presentes no *GlycoSciences.de*, permitem ligar árvores sacarídicas em estruturas tridimensionais de proteínas. Os modelos gerados, entretanto, são baseados em estruturas determinadas experimentalmente e não representam a real variabilidade conformacional das glicanas [27, 29]. A principal lacuna detectada na geração de modelos de glicoproteínas é a ausência de conhecimento acerca das estruturas de menor energia livre para carboidratos complexos. A

presente proposta visa sanar tal lacuna, utilizando a metodologia previamente empregada pelo nosso grupo de pesquisa gerando sacarídeos de geometrias abundantes por MD e analisando seu comportamento por subsequente DM [40–43].

2 Justificativa

Apesar do grande esforço por parte da comunidade científica em estabelecer bancos de dados de carboidratos, visando disponibilizar suas estruturas e classificar suas funções em processos metabólicos [36, 38, 39], nenhum sistema de armazenamento de estruturas sacarídicas considera espectros conformacionais obtidos de modo robusto e sistemático.

Em análises de glicosilação, por exemplo, a estrutura tridimensional da porção sacarídica deve ser considerada e, como evidenciado, modelos obtidos por métodos experimentais geralmente não apresentam resolução suficiente para representar corretamente propriedades elásticas e oscilatórias dos carboidratos [11]. Os ângulos diedrais entre dissacarídeos obtidos através de técnicas de simulação computacional em meio aquoso se mostram de grande confiabilidade, e os dados gerados podem alicerçar MDs de glicoconjugados com grande fidedignidade com a realidade, como proposto [31].

Adicionalmente, embora este método de geração de dados conformacionais esteja pré-estabelecido em trabalhos anteriores do grupo [44, 45] o procedimento é extenso e lento. Um sistema de automatização, então, é proposto, visando acelerar o processo e assegurar uma produção sistemática e concisa de dados, viabilizando a obtenção de informações consistentes para um grande número de estruturas sacarídicas.

3 Objetivos

3.1 Objetivos Gerais

Considerando o exposto, o presente trabalho tem por objetivo automatizar uma abordagem previamente estabelecida pelo Grupo de Bioinformática Estrutural da UFRGS na geração de preferências conformacionais para estruturas sacarídicas [10,33,44] e, assim, fornecer dados para a construção de um banco de dados para preferências conformacionais de carboidratos.

3.2 Objetivos Específicos

1. Estabelecer um *workflow* em linguagem de programação *Python* eficiente na geração de ângulos diedrais de menor energia para dissacarídeos, envolvendo manipulação e edição de arquivos de texto, emprego de *softwares* secundários que executem análises de MD e DM, preparo e análise de dados e geração de figuras representativas;
2. Obter o espectro conformacional preferencial para cada uma das combinações de dissacarídeos previstas nos bancos de dados, considerando em primeiro momento oito diferentes monossacarídeos, em suas formas anoméricas α e β e diferentes ligações glicosídicas;
3. Geração de mapas de energia, considerando ângulos de torção ϕ e ψ para cada combinação dissacarídica;
4. Hipotetização de identidade e tendência conformacional para cada uma das ligações glicosídicas.

4 Metodologia Empregada

4.1 Estratégia, Nomenclatura e *Softwares* Utilizados

A metodologia empregada seguiu a abordagem de busca por conformações preferenciais previamente empregada, estabelecida e validada pelo nosso grupo [40–43]. Em linhas gerais, a estratégia consistiu em montar as topologias dos sistemas estudados, observar sua energia livre em diferentes graus de torsão diedral através de MD e verificar a abundância relativa destes estados conformacionais através de técnicas de DM (Ver Figura 8). Adicionalmente, a metodologia foi inserida em um *workflow* em linguagem de programação *Python*, viabilizando a execução da metodologia em larga escala, em 16 núcleos computacionais, de forma simultânea.

As recomendações de nomenclatura e símbolos propostos pela IUPAC [20] foram utilizados. A orientação relativa dos resíduos de monossacarídeo na molécula dissacarídica é definida por dois a três ângulos torsionais na ligação glicosídica. Para a ligação (1→X), tal que 'X' seja '2', '3', '4' ou '6' para as ligações 1→2, 1→3, 1→4 ou 1→6, nesta ordem, ϕ e ψ são definidos a seguir nas Equações 4.1 e 4.2:

$$\phi = \text{O5} - \text{C1} - \text{OX} - \text{CX} \quad (4.1)$$

$$\psi = \text{C1} - \text{OX} - \text{CX} - \text{C(X-1)} \quad (4.2)$$

Para uma ligação (1→6), o ângulo ω é descrito na Equação 4.3:

$$\omega = \text{O6} - \text{C6} - \text{C5} - \text{C4} \quad (4.3)$$

As simulações moleculares foram executadas utilizando o pacote de *software* GROMACS 4.5.1 [46] com campo de força GROMOS 53A6_{GLYC}, especialmente parametrizado para a simulação de monossacarídeos de estrutura aldohexopiranosídica. As superfícies de energia livre foram obtidas com o auxílio da biblioteca *open source* PLUMED [47]. Para fins de eficiência e praticidade, as análises foram automatizadas utilizando *scripts* escritos na linguagem de programação *Python*.

4.2 Sistemas Estudados

Neste trabalho, dissacarídeos obtidos na plataforma de construção e análise de sacarídeos CarbM [48] - que encontra-se em estado de construção e deverá ser

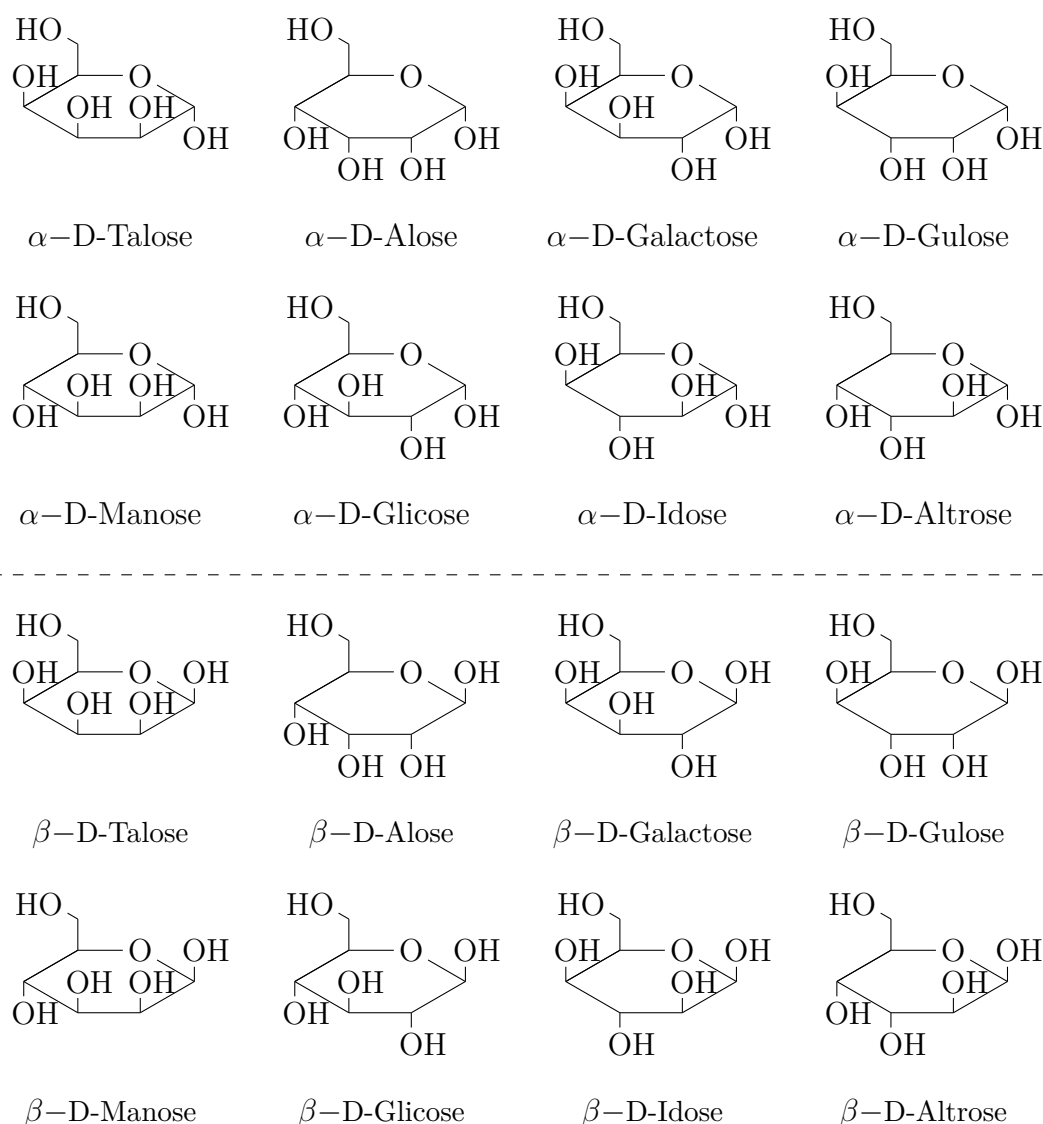


Tabela 4 – A tabela descreve os sistemas alvo de estudo neste trabalho. As oito D-aldohexoses Talose, Alose, Galactose, Gulose, Manose, Glucose, Idose e Altrose e suas formas anoméricas α e β , situadas na parte superior e inferior da tabela, respectivamente.

completada com os dados gerados por este estudo - foram construídos e suas estruturas PDB [49] geradas. Os dissacarídeos estudados consistem da ligação glicosídica entre oito D-aldohexoses: Talose, Alose, Galactose, Gulose, Manose, Glucose, Idose e Altrose. Suas formas anoméricas α e β foram consideradas (Ver Tabela 4). As ligações glicosídicas ($1 \rightarrow X$) foram analisadas, tal que X seja 2, 3, 4 ou 6. Considerando oito diferentes monossacarídeos, duas formas anoméricas α e β e quatro tipos de ligação glicosídica abundantes na natureza [20], 1024 combinações dissacarídicas foram alvos de estudo.

4.3 Simulações

4.3.1 Construção de Topologias

A construção das topologias dos dissacarídeos estudados foi efetuada através da ferramenta *pdb2gmx*, contida no pacote GROMACS de simulações. O *input* desta ferramenta é um arquivo PDB e este retorna, como *output*, um arquivo de topologia *.top* baseando-se no campo-de-força *united atom* GROMOS 53A6_{GLYC}, previamente descrito [10].

4.3.2 Preparo Pré-Dinâmicas Moleculares

Cada topologia dissacarídica foi inserida em uma caixa de solvatação com condições periódicas de contorno em formato dodecaédrico e solvente aquoso modelo SPC (*simple point charge*) [50]. A fim de minimizar a energia do sistema e evitar choques estereoquímicos, o algoritmo de minimização de energia *Steepest Descent* (máximo declive) foi utilizado. A adição de contraíons para neutralização não foi necessária, dada a ausência de carga do sistema em análise.

4.3.3 Metadinâmica e Identificação de Confôrmeros de Menor Energia

Os cálculos de MD para cada dissacarídeo consistiram em simulações de 10 ns, utilizando $W = 0.1$ para altura Gaussiana e um σ de 0,5 para cada um dos ϕ e ψ de [51]. A ferramenta *sum_hills* do pacote PLUMED foi utilizada na cálculo de energia livre. Embora o resultado gerado por MD seja um espectro populacional de configurações diedrais de menor energia livre, denominados **confôrmeros de energia mínima** (CEM), diferentes combinações ϕ e ψ foram coletadas onde a adição gaussiana durante o processo de MD foi especialmente elevada: para cada estrutura dissacarídica, a combinação diedral com o maior número de adições gaussianas - isto é, menor energia livre calculável - foi considerada um **confôrmero de energia mínima global** (CEMG). Combinações diedrais de energia livre significativamente baixas, com valores abaixo do limiar de 30 kJ/mol e situadas em algum quadrante dos eixos ϕ e ψ não ocupado pelo CEMG, foram coletadas e consideradas **confôrmeros de energia mínima local** (CEML) (Ver figura 9). A utilização de um limiar de 30 kJ/mol como critério para detecção de CEMs foi estabelecida de forma empírica, a partir da análise de CVs com picos de maior adição gaussiana: foi verificado um padrão de limiar energético nos vales de conformação de menor energia e este padrão foi utilizado na detecção dos confôrmeros restantes, de forma arbitrária. Para fins de análise, um mapa de contorno foi construído para cada dissacarídeo, análogo ao mapa de Ramachandran [52] e as combinações ϕ e ψ

para diferentes CEM foram extraídas através de *scripts* em linguagem de programação *Python*. Todas as coordenadas correspondentes aos CEMs de todos os dissacarídeos analisados encontram-se no seção de Anexos.

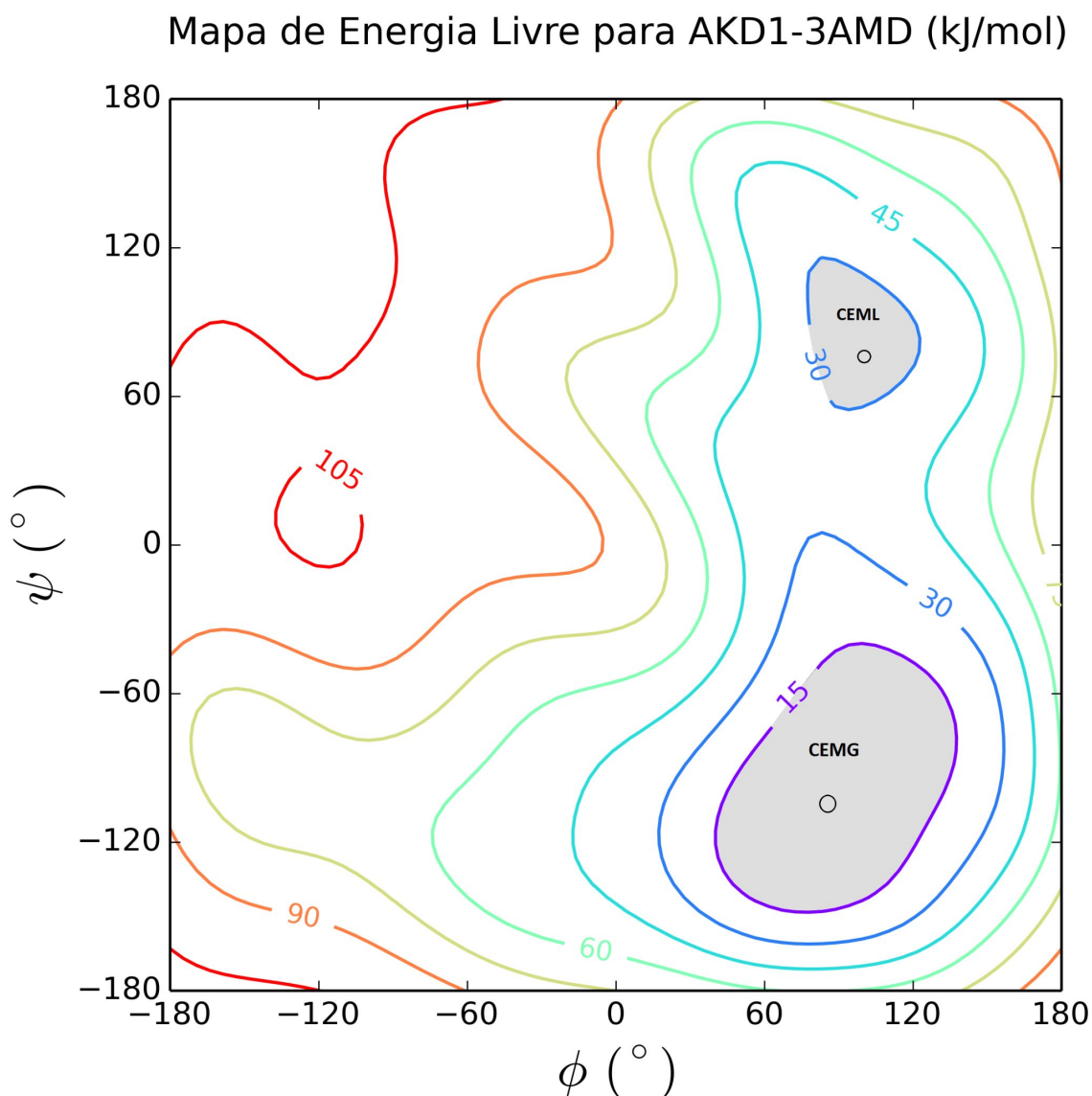


Figura 9 – O mapa de contorno energético foi gerado para cada dissacarídeo. Nesta figura, a energia livre para diferentes combinações diedrais de ϕ e ψ foi gerada para o dissacarídeo α -D-gulose(1 \rightarrow 3) α -D-manose. As regiões hachuradas representam conformêros de energia mínima (CEM). No quarto quadrante encontra-se o conformêro de energia mínima global (CEMG), definido pelo contorno de energia livre de 15kJ/mol. O segundo CEM, no quadrante um, é considerado um conformêro de energia mínima local (CEML). Os círculos situados no centro de cada contorno hachurado representam as coordenadas ϕ e ψ que foram coletadas e utilizadas na representação de cada CEM e na construção de topologias para refinamento.

4.3.4 Amostragem Conformacional para Quantificação Relativa de Estados Conformacionais

De posse das regiões de prevalência conformacional para cada dissacarídeo, dada as combinações de ângulos diedrais de menor energia, novas estruturas PDB foram geradas de acordo com os ângulos obtidos. Estas estruturas PDB foram utilizadas na geração de novas topologias e, então, submetidas ao preparo pré-DM e subsequente processo de refinamento por DM de 100 ns, a fim de verificar os resultados obtidos por MD. Nesta etapa, busca-se analisar as conformações assumidas com maior abundância durante o período de amostragem e sua distribuição entre estados conformacionais de energia. As geometrias de maior predominância são, então, confrontadas com resultados obtidos por MD, a fim de se observar a estabilidade da conformação alvo de estudo. Não apenas o mínimo global, mas os mínimos locais também foram considerados, a fim de verificar convergências para mínimos globais em refinamento, verificando as predominâncias de geometrias de mínimos de energia.

4.3.5 Automatização Utilizando *Scripts* em *Python*

A automatização de procedimentos secundários foi feita pela utilização de *scripts* em formato *workflow*, sistematizando procedimentos computacionais, utilizando rotinas e subrotinas na linguagem de programação orientada a objetos *Python* [53]. Utilizando o módulo *os.system()*, uma variedade de comandos foram inseridos no *script*, no formato de *strings* - conjuntos de caracteres (frases):

- Comandos na linguagem *bash* de programação e comandos simples, de manipulação e análise de arquivos, intrínsecos a sistemas operacionais *Unix*;
- Chamada de subprogramas, como o *software* GROMACS de simulação de sistemas moleculares.

A manipulação, leitura e edição de arquivos foi feita utilizando os argumentos *readline()* e *write()* de *Python*. Bibliotecas adicionais foram utilizadas para calcular distâncias euclidianas nos eixos ϕ e ψ , como *python.math* e *python.distance*. Utilizando a biblioteca gráfica *python.matplotlib*, representações visuais de mapas e geração de gráficos foram efetuados.

A fim de executar comandos de forma sistemática, os nomes e endereços de arquivos e pastas foram armazenados em estruturas de lista, através do método *os.listdir()* e, através de estruturas de repetição (*loops*), subcomandos foram realizados ao longo desta lista, de modo iterativo.

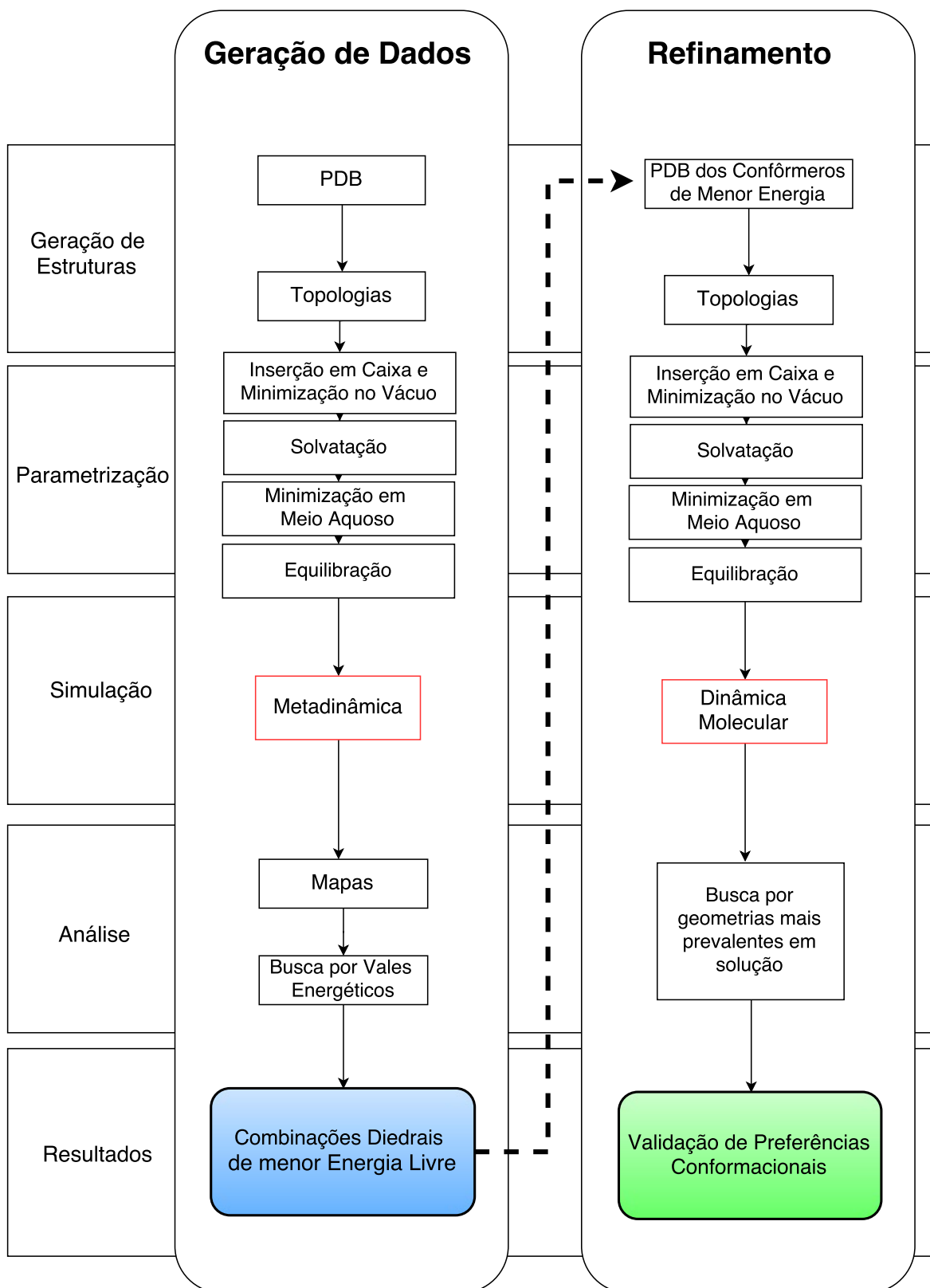


Figura 8 – Metodologia empregada e automatizada neste trabalho. Consistindo em duas etapas: geração e refinamento de dados, com subetapas análogas, diferenciando-se, essencialmente, na técnica de obtenção de mínimos de energia e análise de resultados.

5 Resultados e Discussão

Os 1024 dissacarídeos foram submetidos à metodologia previamente exposta, descrita na Figura 8. Destes, 296 combinações foram concluídas até o presente momento. Os sistemas em estudo podem ser divididos em três classes, que passaremos a utilizar aqui como referência:

1. **Pré-MD** - Fase Pré-Metadinâmica
2. **Pós-MD** - Fase Pós-Metadinâmica/Pré-Refinamento
3. **Pós-DM** - Fase Pós-Dinâmica Molecular (Refinamento)

Vale ressaltar, no entanto, que parte dos sistemas submetidos à MD não mantiveram sua integridade até o fim da simulação, fragmentando-se e perdendo sua validade. A estes casos vamos nos referir como sistemas desintegrados (**SD**). Nas seções a seguir os resultados obtidos neste trabalho serão discutidos. Primeiramente, a eficácia da metodologia automatizada será descrita. Na sequência, as prevalências conformacionais para cada tipo de ligação glicosídica serão reveladas para combinações dissacarídicas na Fase Pós-MD da metodologia empregada. Por fim, as geometrias prevalentes dos dissacarídeos na fase Pós-DM serão apresentadas.

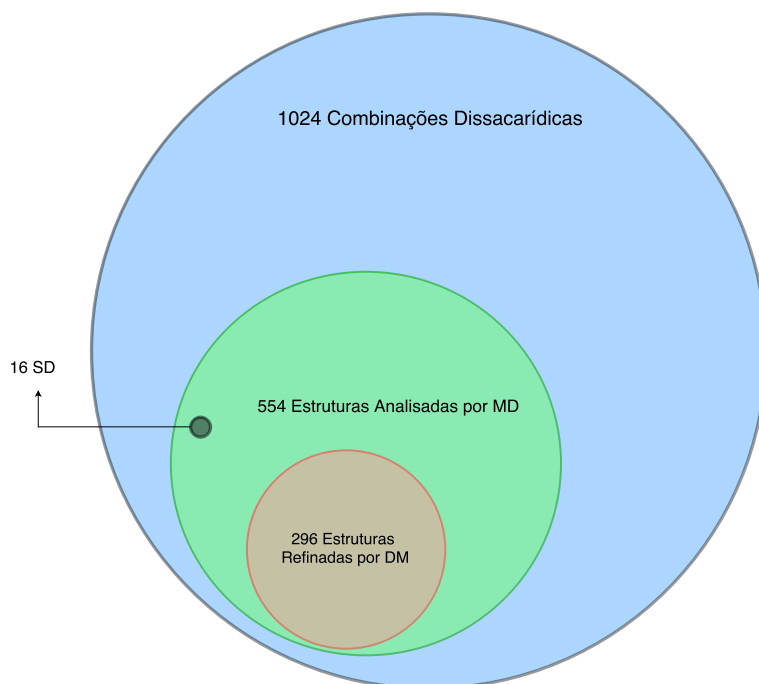


Figura 10 – O digrama de Venn descreve o progresso da análise dos sistemas alvo. MD, DM e SD fazem referência a metadinâmica, dinâmica molecular e sistemas desintegrados, respectivamente.

5.1 Otimização Através de Automatização

A utilização de um *workflow* automatizado mostrou-se extremamente eficiente na implementação das etapas contidas na metodologia. Todos os comandos de execução, que previamente eram efetuados pelo usuário através do teclado, em tempo real de execução, foram inclusos dentro de *scripts* de *Python*, otimizando a metodologia em vários aspectos, especialmente velocidade e eficiência.

Para cada dissacarídeo, cerca de 10 comandos foram inclusos e suas execuções foram feitas em série, de forma automática. Para as simulações de MD, através da automatização, 16 sistemas puderam ser simulados simultaneamente. A construção e edição de topologias e análise de mínimos de energia foram especialmente aperfeiçoadas: a substituição de um método manual por um *script* acelerou significativamente o procedimento.

5.2 Preferências Conformacionais Obtidas Após Metadinâmica

A análise sistemática de 544 dissacarídeos por MD revelou suas preferências conformacionais, podendo ser divididos em tipos de ligação glicosídica:

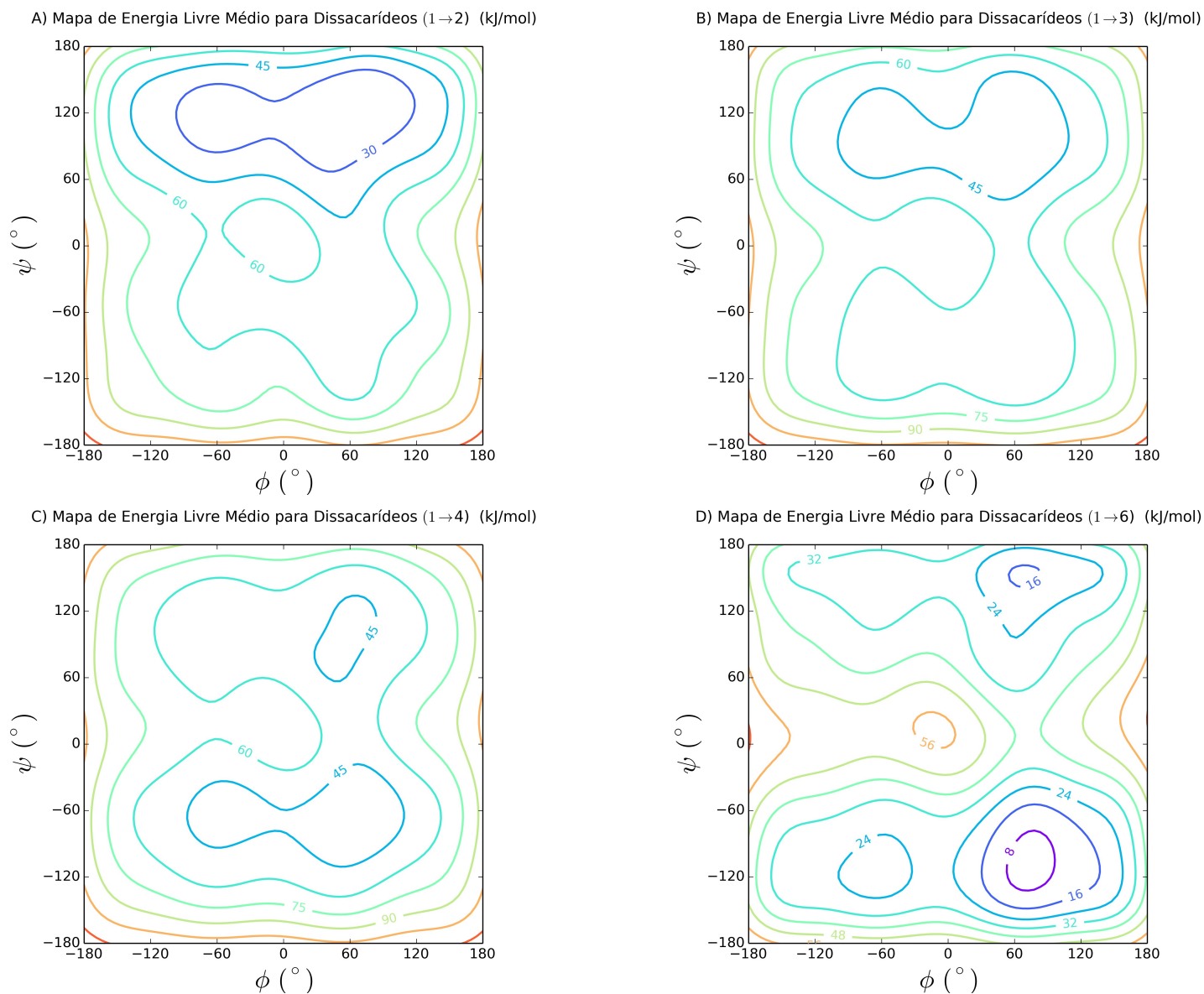


Figura 11 – Distribuição do espectro conformacional médio para dissacarídeos dividido em tipos de ligação glicosídica. Os quadros A, B, C e D descrevem a média conformacional de energia para as ligações 1→2, 1→3, 1→4 e 1→6, respectivamente.

- 134 dissacarídeos de ligação 1→2;
- 144 dissacarídeos de ligação 1→3;
- 134 dissacarídeos de ligação 1→4;
- 142 dissacarídeos de ligação 1→6.

O panorama comparativo das combinações diedrais ϕ e ψ , para cada tipo de ligação glicosídica, pode ser observado nas Figuras 11. A análise da influência do anomerismo do primeiro monossacarídeo envolvido na reação glicosídica na conformação

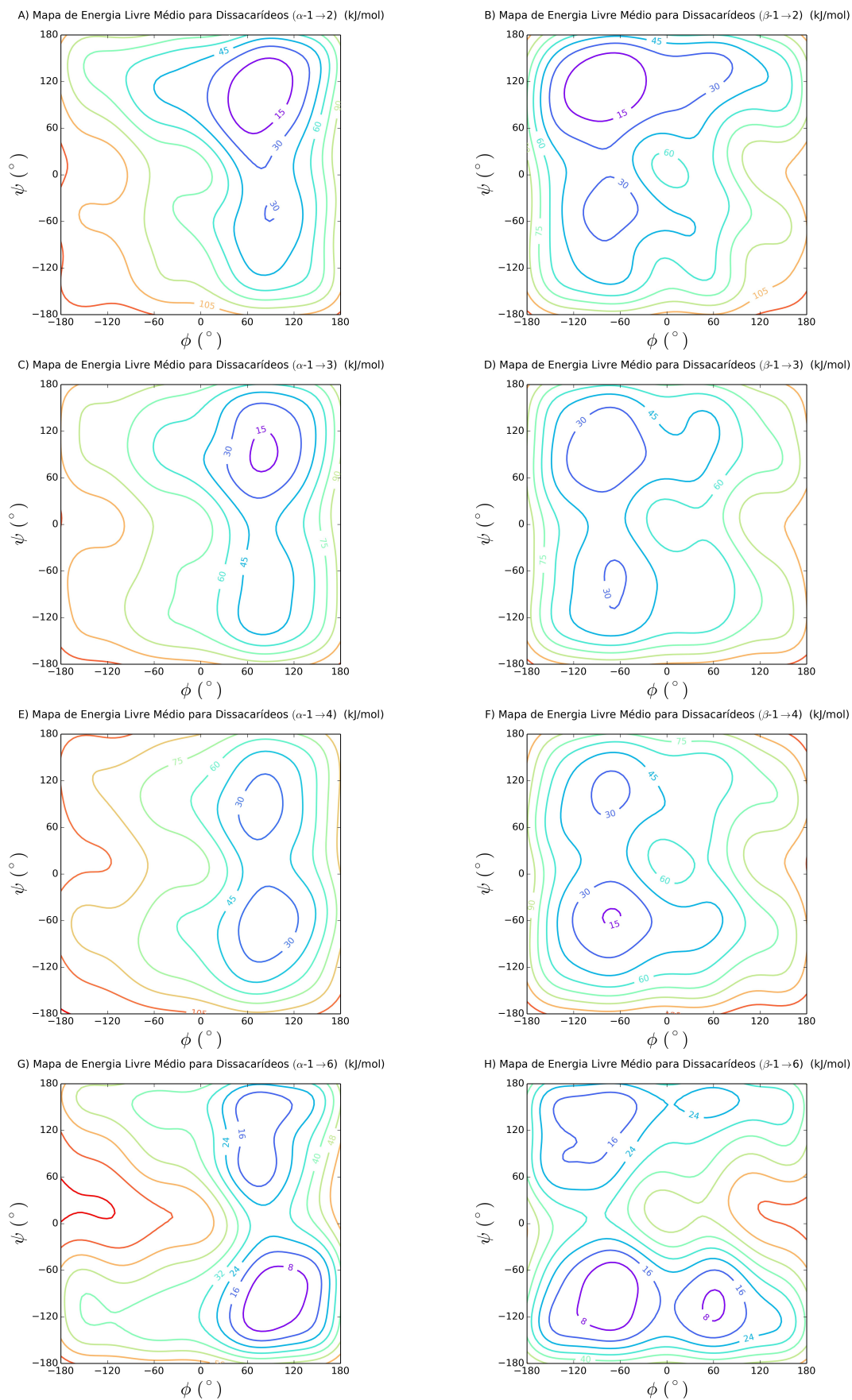


Figura 12 – Distribuição do espectro conformacional médio para dissacarídeos dividido em tipos de ligação glicosídica e subdividido entre tipo de anomerismo presente no primeiro monossacarídeo. Nos quadros A, C, E e G, encontram-se dissacarídeos $\alpha \rightarrow \alpha \setminus \beta$, para ligações glicosídicas 1 \rightarrow 2, 1 \rightarrow 3, 1 \rightarrow 4 e 1 \rightarrow 6, respectivamente e, de modo análogo, nos quadros B, D, F e H, encontram-se dissacarídeos $\beta \rightarrow \alpha \setminus \beta$.

dos monossacarídeos estudados pode ser realizada a partir da Figura 12. Adicionalmente, a análise de identidade conformacional das ligações glicosídicas de forma média, integrando a informação de desvio padrão, através das áreas elípticas, é descrita na Figura 13. Com o propósito de otimizar a explicação, utiliza-se aqui a referência a regiões do espectro ϕ e ψ por quadrantes, termo utilizado em trigonometria: o primeiro quadrante define a região positiva para ϕ e ψ ; quadrante dois referencia região negativa para ϕ e positiva para ψ ; quadrante três define região negativa para ambos os eixos ϕ e ψ ; e, finalmente, quadrante quatro para região positiva para ϕ e negativa ψ . Embora o espectro de análise para todas as combinações de monossacarídeos, considerando isomerias e diferentes ligações glicosídicas, não esteja completo, algumas observações e inferências podem ser feitas.

As conformações de energia mínima global de dissacarídeos distribuem-se de forma direcionada ao longo dos eixos ϕ e ψ . A partir da figura 13, observa-se que as ligações glicosídicas 1→2 situam-se nos quadrantes um e dois e, gradualmente, para ligações com os carbonos 3, 4 e 6, suas médias direcionam-se para os quadrantes três e quatro, com valores decrescentes de ψ . As conformações de energia mínima global encontram-se geralmente em lados opostos do eixo ψ : enquanto dissacarídeos β populam com maior estabilidade os quadrantes dois e três, os dissacarídeos α se concentram nos quadrantes um e quatro.

O anomerismo $\alpha\backslash\beta$ do primeiro monossacarídeo envolvido na ligação glicosídica exerce forte influência sobre a conformação do dissacarídeo formado. Analisando dissacarídeos oriundos de um monossacarídeo em diferentes estados anoméricos, percebe-se a grande influência destes nas conformações de menor energia do dissacarídeo. Analisando a Figura 12, observa-se que as conformações de menor energia, para a mesma ligação glicosídica, encontram-se em quadrantes opostos definidos pelo eixo de ϕ . Adicionalmente, os valores médios e de desvio padrão calculados para ligações glicosídicas de diferentes estados anoméricos encontram-se, em forma quantitativa, na Tabela 5.

Para ligações α -1→2, por exemplo, o desvio padrão geral, representado pela área da elipse é baixo. O mesmo acontece para dissacarídeos β -1→2, de forma ainda mais acentuada, com valores de 7.6 e 7.22 para desvio padrão amostral calculado para valores de ϕ e ψ , respectivamente, demonstrando rigidez conformacional independente de isomeria. O motivo para tal fenômeno foi investigado com maior profundidade: em análise de uma α -D-Talose(1→2) β -D-Galactose, pertencente ao grupo amostral analisado, uma possível interação

intramolecular pôde ser encontrada. Analisando a trajetória da simulação de DM, verificou-se que o oxigênio ligado ao carbono número 6 do monossacarídeo talose se mantém a uma média de 3.71 Å do oxigênio ligado ao carbono número 3 do monossacarídeo galactose - a distância, no início da simulação, era de 4.22 Å -, com um desvio padrão amostral calculado em 0.06 ao longo da simulação, mostrando significativa rigidez e possível interação intramolecular.

Para ligações 1→3 e 1→4, no entanto, a isomeria de seus monossacarídeos componentes parece pouco controlar a conformação do dissacarídeo, onde a variabilidade conformacional é significativamente alta, atingindo, no mínimo, 90, para valores de desvio padrão amostral no eixo ψ . Estes números demonstram que as estruturas analisadas podem transitar com significativa facilidade entre um quadrante e outro, podendo assumir diferentes conformações de baixa energia e de estabilidade, o que pode ser evidenciado na análise do espectro conformacional, nas Figuras 11 e 12, onde mínimos de energia podem ser encontrados em quadrantes opostos do marco definido pelo eixo ϕ .

Já em ligações 1→6, a análise separada de dissacarídeos de diferente isomeria revela uma dependência seletiva de anomerismo. Para dissacarídeos β , o desvio padrão entre as análises de menor energia, para ϕ e ψ , foram calculados em 59.36 e 53.11, respectivamente. No entanto o anomerismo α parece restringir a variabilidade do grau diedral ϕ , com um desvio de 21.94, ao custo do aumento da liberdade conformacional de ψ , com o valor calculado para desvio padrão de 69.92.

Variabilidade em conservância conformacional para dissacarídeos 1→6.

Considerando a natureza da ligação glicosídica 1→6, onde a hidroxila envolvida na ligação está fora do anel - exocíclica -, uma grande variabilidade conformacional era esperada, dado o ângulo diedral adicional ω que permite maior variabilidade conformacional. Os resultados obtidos por refinamento estão de acordo com dados experimentais [54]: as geometrias de maior predominância de dissacarídeos 1→6 populam o mapa ϕ e ψ com menor centralização, ocupando cerca de 10% em área, em comparação a <5% para as ligações glicosídicas 1→2, 1→3 e 1→4. O número médio de CEM por dissacarídeo 1→6 foi calculado em cerca de 3, o que pode ser evidenciado na Figura 11.

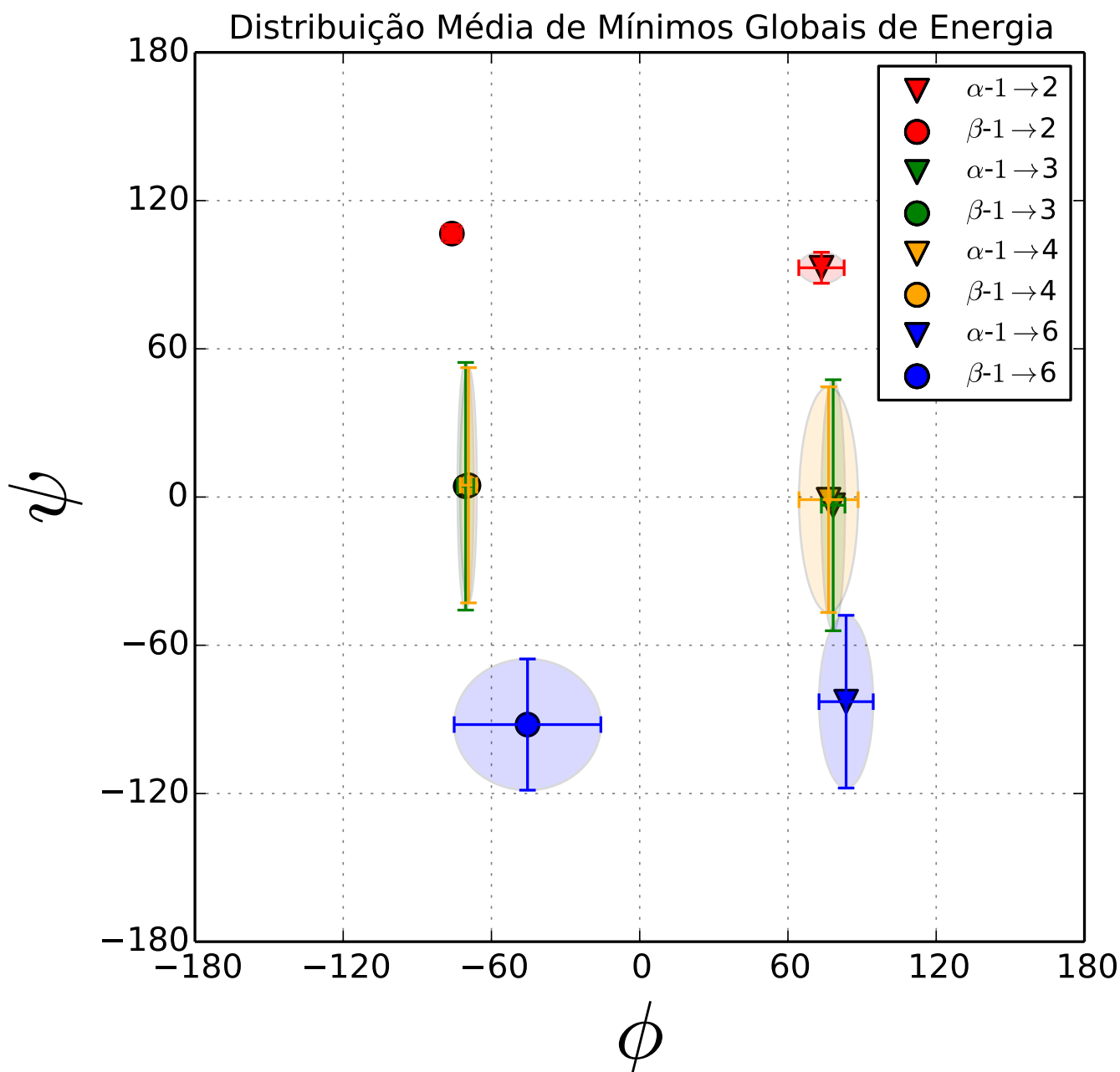


Figura 13 – O mapa descreve as coordenadas ϕ , ψ médias para as CEMG calculadas através de MD para os dissacarídeos estudados. As cores vermelho, verde, amarelo e azul representam, nesta ordem, ligações glicosídicas 1 \rightarrow 2, 1 \rightarrow 3, 1 \rightarrow 4 e 1 \rightarrow 6. Dissacarídeos provenientes de monossacarídeos α são representados por um círculo, enquanto dissacarídeos provenientes de monossacarídeos β , por um triângulo. Cada elipse representa uma média, de modo que as sua dimensão horizontal (largura) e vertical (altura) representam os desvios padrões amostrais entre as medidas para o eixo ϕ e ψ , respectivamente.

Grupos	Média		Desvio Padrão	
	ϕ	ψ	ϕ	ψ
α -1 \rightarrow 2	73.57	92.81	18.36	12.55
β -1 \rightarrow 2	-76.01	106.65	7.6	7.22
α -1 \rightarrow 3	78.3	-3.32	9.52	101.62
β -1 \rightarrow 3	-70.43	4.36	6.55	100.25
α -1 \rightarrow 4	76.44	-1.06	23.93	91.34
β -1 \rightarrow 4	-69.3	4.77	6.69	95.22
α -1 \rightarrow 6	83.54	-82.84	21.94	69.92
β -1 \rightarrow 6	-45.4	-92.11	59.36	53.11

Tabela 5 – Tabela de valores ϕ e ψ médios de menor energia para dissacarídeos estudados.

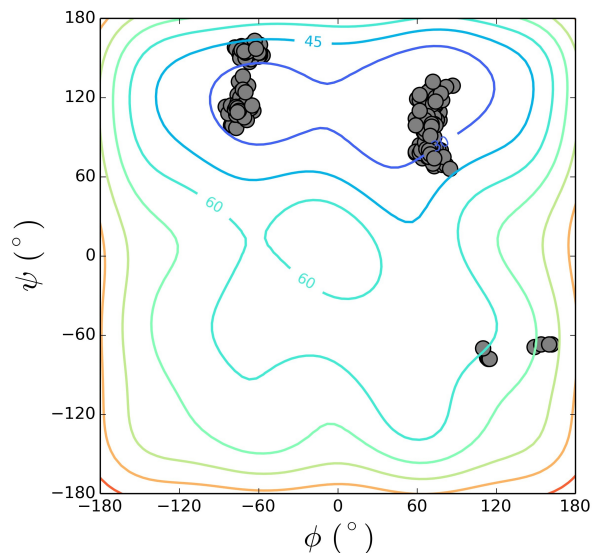
5.3 Abundância Relativa Após Refinamento por DM

Dos 544 dissacarídeos submetidos a MD, 296 foram também submetidos ao processo de refinamento por DM. Para 157 estruturas dissacarídicas, mais de um CEM foram encontrados. Todos os CEMs foram considerados e destes 296 dissacarídeos, 501 CEMs foram estudadas, sendo 296 CEMGs e 205 CEMs. Nesta seção analisaremos dois aspectos pertinentes ao refinamento: **interconversões** e **convergência**. O primeiro termo diz respeito à conformação dos dissacarídeos que, durante o processo de refinamento, permaneceram predominantemente nas regiões iniciais da simulação, determinadas por MD, não assumindo a configuração de outro CEM. O segundo, no entanto, leva em consideração a análise de diferentes CEMs para cada dissacarídeo e sua capacidade de adquirir uma configuração diedral de um CEM em comum - em geral, um CEMG. Embora estes dois fenômenos aconteçam de forma concomitante, por motivos de clareza, estes serão expostos aqui de forma independente.

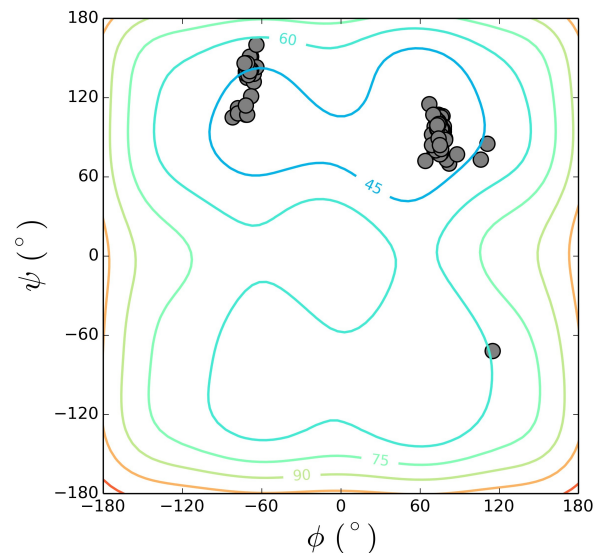
5.3.1 Interconversões Entre Mínimos após DM

O comportamento predominante dos dissacarídeos quando submetidos ao processo de refinamento por DM pode ser observado na Figura 14, onde a abundância relativa de configurações diedrais foi sobreposta ao mapa de estados conformacionais médios obtidos por MD, divididos por ligação glicosídica. De modo análogo, a análise foi subdividida em tipos de anomeria α e β e pode ser observada na Figura 15. Os círculos cinzas representam combinações diedrais de relativa abundância calculadas por DM, para diferentes CEMs. Ou seja, conformações que, durante a simulação permaneceram em dada configuração por maior tempo ao longo da amostragem realizada, representando a tendência conformacional para esta estrutura.

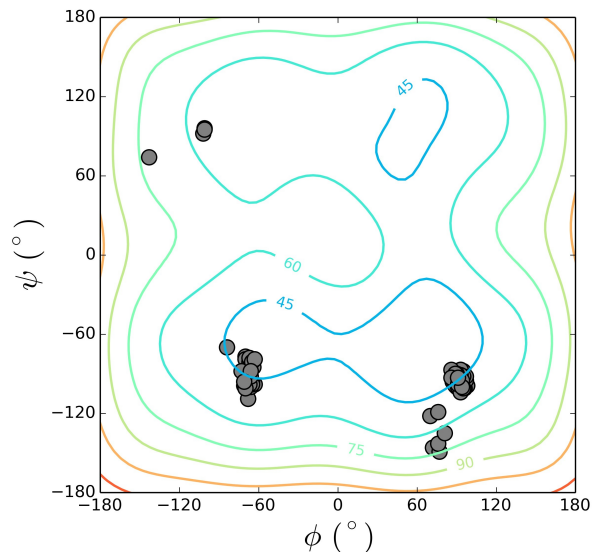
A) Conformações Predominantes por DM para Dissacarídeos (1→2) (kJ/mol)



B) Conformações Predominantes por DM para Dissacarídeos (1→3) (kJ/mol)



C) Conformações Predominantes por DM para Dissacarídeos (1→4) (kJ/mol)



D) Conformações Predominantes por DM para Dissacarídeos (1→6) (kJ/mol)

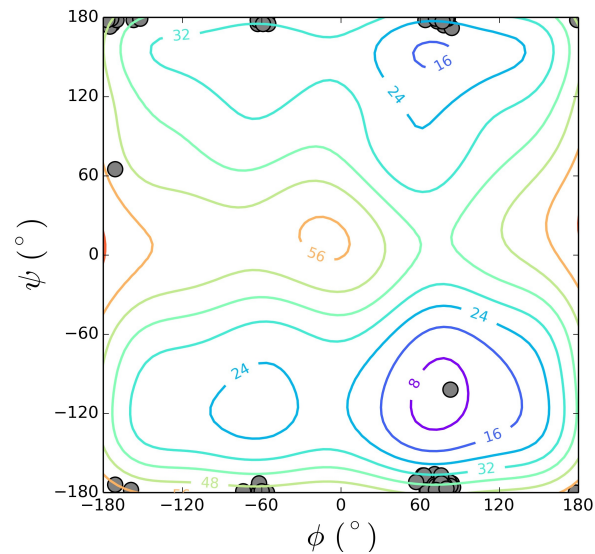


Figura 14 – Combinações diedrais de maior abundância relativa, calculadas por DM (círculos em cinza), sobreposta ao mapa médio de MD. A análise foi dividida em dissacarídeos de diferentes tipos de ligação glicosídica. Os quadros A, B, C e D descrevem a média conformacional de energia para as ligações 1→2, 1→3, 1→4 e 1→6, respectivamente.

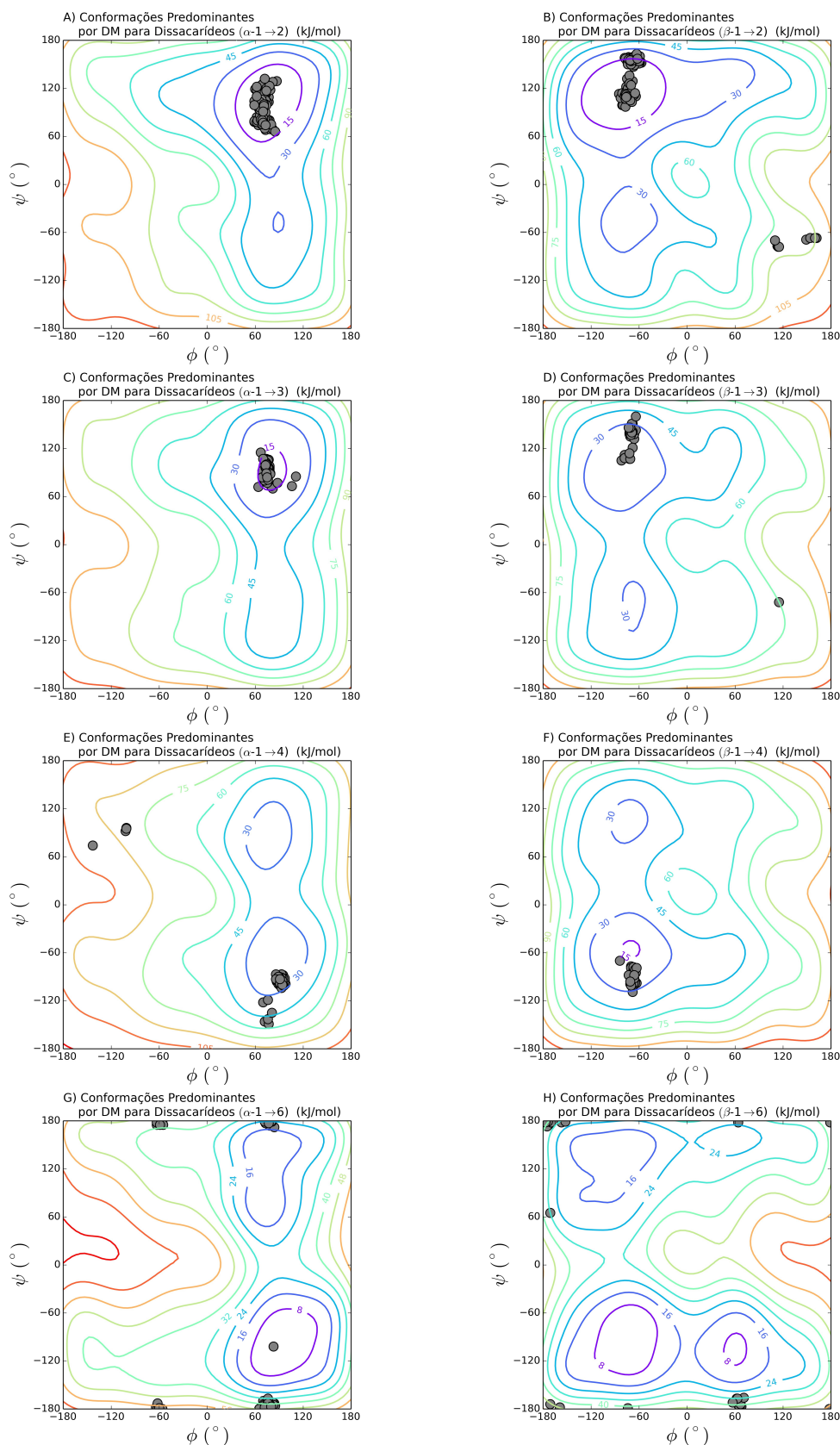


Figura 15 – Combinações diedrais de maior abundância relativa, calculadas por DM (círculos em cinza), sobreposta ao mapa médio de MD. A análise foi dividida em dissacarídeos de diferentes tipos de ligação glicosídica e subdividida entre tipo de anomerismo presente no primeiro monossacarídeo. Nos quadros A, C, E e G, encontram-se dissacarídeos $\alpha \rightarrow \alpha \setminus \beta$, para ligações glicosídicas 1 \rightarrow 2, 1 \rightarrow 3, 1 \rightarrow 4 e 1 \rightarrow 6, respectivamente e, de modo análogo, nos quadros B, D, F e H, encontram-se dissacarídeos $\beta \rightarrow \alpha \setminus \beta$.

Para as ligações glicosídicas do tipo 1→2, 1→3 e 1→4, em ambas as Figuras 14 e 15, um padrão de conformações diedrais definido pode ser observado, onde as geometrias de maior predominância obtidas por refinamento orbitam entre os CEM identificados por MD.

Para ligações do tipo 1→6, observa-se um comportamento menos conservado e que difere substancialmente do grupo de ligações glicosídicas do tipo 1→2, 1→3 e 1→4. Sua menor conservância está, provavelmente, relacionada à natureza do tipo de ligação glicosídica 1→6 que, além de aumentar a distância entre os anéis monossacarídicos, permite maior flexibilidade conformacional caracterizada pelo ângulo diedral adicional ω . As combinações diedrais de maior abundância relativa situam-se em três regiões definidas do mapa ϕ e ψ . As preferências conformacionais para o ângulo diedral ϕ são semelhantes entre todas as ligações glicosídicas, ocorrendo em dois polos definidos, situados entre -120 e -60° e 60 e 120° para ϕ . Para dissacarídeos 1→6, um terceiro polo se apresenta para $\phi = 180^\circ$, de menor energia livre calculável. Os dados obtidos corroboram com dados experimentais utilizando análise de RMN [54, 55].

5.3.2 Convergência de Mínimos Locais de Energia

Dos 296 dissacarídeos simulados por DM, 157 apresentavam ao menos um mínimo local de energia, além do mínimo global. Tais dissacarídeos foram refinados individualmente e sua predominância em simulação foi analisada da seguinte forma: os ângulos ϕ e ψ para as geometrias predominantes correspondentes a cada mínimo local de energia foram analisados paralelamente de forma estatística a fim de verificar a sua convergência para uma conformação comum. A propriedade torsional dos eixos ϕ e ψ foi considerada no cálculo de convergência, por uma correção linear *ad hoc* na equação de desvio padrão (Equação 5.1).

$$s = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N ((x_i + C_{x_i}) - \bar{x})^2}$$

onde

$$C(i) = \begin{cases} 180, & \text{se } i < 0 \\ -180, & \text{se } i > 0 \end{cases} \quad (5.1)$$

Estruturas dissacarídicas com mínimos locais divergindo em ϕ ou ψ com um desvio padrão maior que 45 foram consideradas não convergentes, por assumir uma conformação significativamente divergente, não pertencendo ao mesmo mínimo local. 152 dissacarídeos (96.81%) apresentaram mínimos locais com convergência, enquanto

5 dissacarídeos apresentaram mínimos não convergentes. Todas as estruturas não convergentes pertenciam ao grupo de ligações glicosídicas do tipo 1→6, corroborando na influência do ângulo diedral ω na determinação conformacional de menor energia.

5.3.3 Reavaliação de SD

Ao longo do processo de MD, algumas estruturas dissacarídicas romperam-se e o espectro conformacional não pode ser obtido, tampouco a identificação de conformações de menor energia pode ser realizada. O motivo pode estar envolvido com a alta instabilidade dessa combinação e sua possível inexistência na natureza. Por ora, estes SD foram deixados de lado, considerando que são uma ínfima parcela do conjunto de sistemas estudados - cerca de 1.56%. Eles serão posteriormente avaliados, manualmente, na busca por possíveis choques esteroquímicos ou erros de parametrização e reencaminhados ao processo de MD.

5.3.4 Mapa de Ramachandran para Dissacarídeos

Por fim, de posse dos dados de refinamento (DM) para topologias de conformações de menor energia calculadas por MD, para diferentes dissacarídeos, pertencentes a diferentes ligações glicosídicas, um mapa análogo ao de Ramachandran [52] para dissacarídeos foi proposto e pode ser observado na Figura 16. Os polígonos irregulares, gerados por algoritmos de geometria computacional, cobrem áreas de maior tendência conformacional para cada tipo de ligação glicosídica. Diferentes cores foram utilizadas para diferentes ligações glicosídicas. As sobreposições representam áreas de tendência conformacional em comum: como pode ser observado na Figura 16, dissacarídeos 1→2 e 1→3 tendem a ocupar o mesmo espaço do mapa ϕ e ψ . Enquanto as conformações de dissacarídeos 1→2, 1→3 e 1→4 tendem a aglomerar-se nas regiões centrais de cada quadrante, dissacarídeos 1→6 ocupam regiões extremas. Embora este mapa seja provisório, já que apenas uma pequena parcela dos dissacarídeos alvo de estudo foi submetida a metodologia estabelecida, este demonstra uma tendência previamente abordada em estudos experimentais [54, 55].

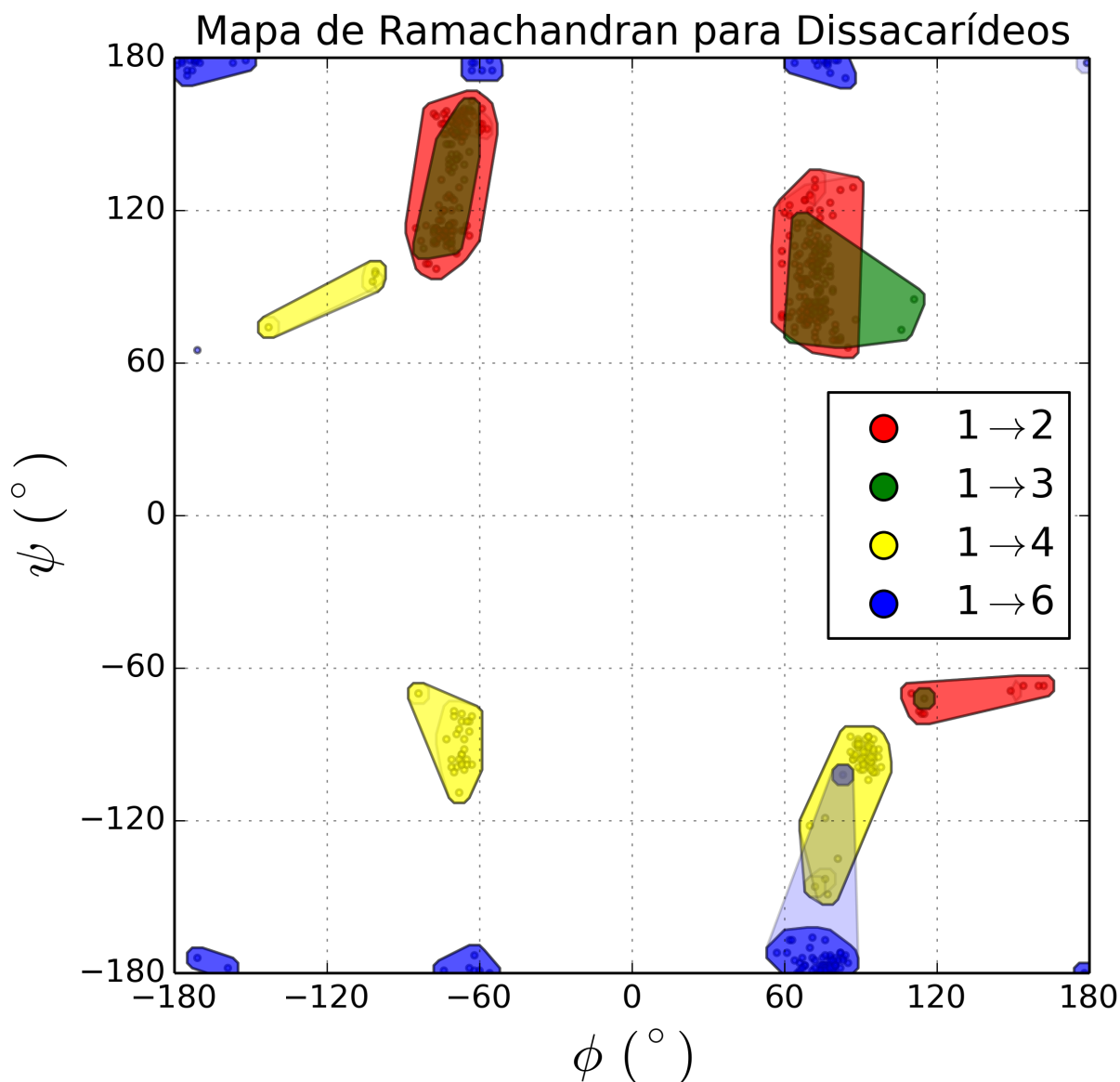


Figura 16 – Mapa análogo ao de Ramachandran para dissacarídeos. Os polígonos irregulares cobrem áreas de maior concentração de geometrias predominantes por DM, para topologias geradas a partir de conformações de menor energia (CEM) calculadas por MD. As cores vermelho, verde, amarelo e azul foram utilizadas para representar dissacarídeos de ligação glicosídica 1 \rightarrow 2, 1 \rightarrow 3, 1 \rightarrow 4 e 1 \rightarrow 6, respectivamente. A opacidade para cada polígono é diretamente proporcional à concentração e, por conseguinte, propensão de conformações estáveis para os dissacarídeos analisados.

6 Conclusões

Considerando o exposto, o trabalho obteve o êxito na geração de uma metodologia consistente e automatizada, acrescentando eficiência na geração de preferências conformacionais de estruturas de sacarídeos, e permitindo assim o escalonamento de metodologia previamente desenvolvida no grupo para um universo amplo de combinações de monossacarídeos.

A **automatização** do *workflow* metodológico realizada em linguagem de programação *Python* permitiu acessar, classificar e editar documentos de texto, facilitando o processo de configuração de cálculos e análise dados. Além disso, o emprego de sub-processos e de paralelização de trabalho permitiu a chamada de *softwares* secundários, acelerando e sistematizando os comandos de execução que eram previamente executados manualmente.

A **metodologia** automatizada foi eficiente na análise conformacional de diferentes combinações dissacarídicas, considerando anomeria α e β , e diferentes tipos de ligações glicosídicas. De posse de uma metodologia de geração e refinamento de dados, a identificação de padrões e tendências conformacionais para cada tipo de ligação glicosídica foi efetuada.

O espectro conformacional ϕ e ψ dos sistemas em estudo foi examinado a partir da geração de **mapas de energia**, utilizando a biblioteca gráfica 2D *matplotlib* para linguagem de programação *Python*.

7 Perspectivas

Como perspectivas para este trabalho, destaca-se a execução completa da metodologia sobre as 1024 combinações dissacarídicas iniciais.

- Dos 1024 dissacarídeos iniciais, 480 ainda devem ser simulados por MD, a fim de que suas combinações diedrais de menor energia livre sejam calculadas. Os SD, dissacarídeos que se romperam ao longo da MD deverão ser reavaliados e novamente submetidos ao processo de MD.
- De posse dos mínimos de energia calculados por MD, 728 dissacarídeos deverão ter suas respectivas estruturas de energia mínima refinadas. Estima-se, caso a taxa média de cerca de 1.69 mínimos locais por dissacarídeo se mantenha constante ao longo das simulações a seguir, que cerca de 1700 estruturas serão refinadas e suas propriedades de convergência e interconversões estudadas.
- A partir dos dados gerados para todas as combinações dissacarídicas, considerando diferentes tipos de ligação glicosídica e diferentes isomerias, novas análises deverão ser feitas e o espectro conformacional característicos de cada combinação, com amparo estatístico, deverá ser obtido - e, com isso, uma atualização no mapa de Ramachandran para dissacarídeos poderá ser efetuada.
- Análise de trajetória ao longo da amostragem da simulação para todos os dissacarídeos com ligações 1→2, buscando por interações intramoleculares, a fim de investigar a rigidez conformacional destes dissacarídeos.

Referências

- 1 VERLI, H. Níveis de Informação Biológica. In: *Bioinformática: da Biologia à Flexibilidade Molecular*. 1^a. ed. [S.l.: s.n.], 2014. cap. 2, p. 13. ISBN 978-85-69288-00-8. Citado na página 14.
- 2 TOUKACH, F. V.; ANANIKOV, V. P. Recent advances in computational predictions of NMR parameters for the structure elucidation of carbohydrates: methods and limitations. *Chem Soc Rev*, v. 42, p. 8376–8415, 2013. Citado na página 14.
- 3 IMBERTY, A.; PÉREZ, S. Structure, conformation, and dynamics of bioactive oligosaccharides: theoretical approaches and experimental validations. *Chem. Rev.*, v. 100, p. 4567–4588, 2000. Citado na página 14.
- 4 LEACH, A. R. *Empirical Force Field Models: Molecular Mechanics*. [S.l.: s.n.], 2008. 165 p. Citado 5 vezes nas páginas 14, 15, 16, 17 e 19.
- 5 VERLI, H. Dinâmica Molecular. In: *Bioinformática: da Biologia à Flexibilidade Molecular*. 1^a. ed. [S.l.: s.n.], 2014. cap. 8, p. 282. ISBN 978-85-69288-00-8. Citado 4 vezes nas páginas 17, 18, 19 e 20.
- 6 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*, v. 118, p. 11225–11236, 1996. Citado na página 17.
- 7 OOSTENBRINK CHRIS; VILLA, A. M. A. E. . V. G. W. F. A biomolecular force field based on the free enthalpy of hydration and solvation: The GROMOS force-field parameter sets 53A5 and 53A6. *J. Comput. Chem.*, v. 25, p. 1656–1676, 2004. Citado na página 17.
- 8 MACKERELL, a. D. et al. All-atom empirical potential for molecular modeling and dynamics studies of proteins. *J. Phys. Chem. B*, v. 102, p. 3586–616, 1998. Citado na página 17.
- 9 CORNELL WENDY D.; CIEPLAK, P. B. C. I. K. P. A. Application of resp charges to calculate conformational energies, hydrogen bond energies, and free energies of solvation. *Journal of the American Chemical Society*, v. 115, p. 9620–9631, 1993. Citado na página 17.
- 10 POL-FACHIN, L. et al. GROMOS 53A6 GLYC, an improved GROMOS force field for hexopyranose-based carbohydrates. *J. Chem. Theory Comput.*, v. 8, p. 4681–4690, 2012. Citado 3 vezes nas páginas 17, 31 e 34.
- 11 GUNSTEREN WILFRED F.; BAKOWIES, D. B. R. C. I. C. M. D. X. . G. P. G. D. P. . G. A. H. P. H. K. M. A. O. C. V.; SCHENK MERIJN; TRZESNIAK, D. V. D. V. N. F. A. Y. H. B. Biomolecular modeling: Goals, problems, perspectives. *Angew. Chemie - Int. Ed.*, v. 45, p. 4064–4092, 2006. Citado 2 vezes nas páginas 18 e 30.

- 12 BARDUCCI, A.; BONOMI, M.; PARRINELLO, M. Metadynamics. *Wiley Interdiscip. Rev. Comput. Mol. Sci.*, v. 1, p. 826–843, 2011. Citado na página 20.
- 13 MÜLLER, E. M.; De Meijere, A.; GRUBMÜLLER, H. Predicting unimolecular chemical reactions: Chemical flooding. *J. Chem. Phys.*, v. 116, p. 897–905, 2002. Citado na página 20.
- 14 LIU, Jian; GOTTSCHALL, Tino; SKOKOV, Konstantin P.; MOORE, James D.; GUTFLEIZCH, O. Structural Transitions. *Nat. Mater.*, v. 11, p. 1–7, 2012. Citado na página 20.
- 15 HUBER, T.; TORDA, A. E.; GUNSTEREN, W. F. van. Local elevation: A method for improving the searching properties of molecular dynamics simulation. *J. Comput. Aided. Mol. Des.*, v. 8, p. 695–708, 1994. Citado na página 20.
- 16 PARK, S.; SCHULTEN, K. Calculating potentials of mean force from steered molecular dynamics simulations. *J. Chem. Phys.*, v. 120, p. 5946–5961, 2004. Citado na página 20.
- 17 LAIO, A.; PARRINELLO, M. Escaping Free-Energy Minima. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, v. 99, p. 12562, 2002. Citado 2 vezes nas páginas 20 e 21.
- 18 BUX, M.; LINDEN, U. D. Parallelization in Scientific Workflow Management Systems. Citado na página 22.
- 19 DEELMAN, E. et al. Workflows and e-Science: An overview of workflow system features and capabilities. *Future Generation Computer Systems*, v. 25, p. 528–540, 2009. Citado na página 22.
- 20 Nomenclature Joint commission on Biochemical. International Union of Pure and Applied Joint Commission on Biochemical Nomenclature *. *Pure Appl. Chem.*, v. 56, p. 595–624, 1984. Citado 3 vezes nas páginas 22, 32 e 33.
- 21 NELSON DAVID L.; COX, M. M. Carbohydrates and Glycobiology. In: *Lehninger Principles of Biochemistry*. [S.l.: s.n.], 2012. p. 1340. Citado 6 vezes nas páginas 22, 23, 24, 25, 26 e 27.
- 22 Figura Glicose e Frutose. Disponível em: <https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/a/aa/D-Fructose_vs._D-Glucose_Structural_Formulae_V.1.svg/2000px-D-Fructose_vs._D-Glucose_Structural_Formulae_V.1.svg.png>. Citado na página 23.
- 23 VOET D.; VOET, J. G. In: *Biochemistry*. [S.l.: s.n.], 2010. p. 1428. ISBN 0470917458. Citado 3 vezes nas páginas 24, 25 e 26.
- 24 Figura Formação de Anel para Glicose. Disponível em: <http://pubs.rsc.org/services/images/RSCpubs.ePlatform.Service.FreeContent.ImageService.svc/ImageService/Articleimage/2014/CP/c4cp02095b/c4cp02095b-s2_hi-res.gif>. Citado na página 24.

- 25 STRYER L; BERG, J. M. T. J. L. . G. G. J. In: *Biochemistry*. [S.l.: s.n.], 2015. p. 1120. ISBN 1464126100. Citado 3 vezes nas páginas 25, 26 e 27.
- 26 VARKI, A. Biological roles of oligosaccharides : all of the theories are correct. v. 3, p. 97–130, 1993. Citado na página 25.
- 27 DWEK, R. A. Glycobiology : “ Towards Understanding the Function of. Citado 3 vezes nas páginas 25, 27 e 28.
- 28 SPIRO, R. G. Protein glycosylation: nature, distribution, enzymatic formation, and disease implications of glycopeptide bonds. *Glycobiology*, v. 12, p. 43R–56R, 2002. Citado na página 25.
- 29 MOREMEN, K. W.; TIEMEYER, M.; NAIRN, A. V. Vertebrate protein glycosylation: diversity, synthesis and function. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, v. 13, p. 448–462, 2012. Citado 2 vezes nas páginas 25 e 28.
- 30 VARKI, A. Nothing in Glycobiology Makes Sense, except in the Light of Evolution. *Cell*, v. 126, p. 841–845, 2006. Citado na página 25.
- 31 POL-FACHIN, L. et al. Effects of glycosylation on heparin binding and antithrombin activation by heparin. *Proteins*, v. 79, p. 2735–45, 2011. Citado 2 vezes nas páginas 26 e 30.
- 32 POL-FACHIN, L. et al. Glycosylation is crucial for a proper catalytic site organization in human glucocerebrosidase. *Glycoconj. J.*, Glycoconjugate Journal, p. 237–244, 2016. Citado na página 26.
- 33 POL-FACHIN, L.; VERLI, H. Assessment of glycoproteins dynamics from computer simulations. *Mini. Rev. Org. Chem.*, v. 8, p. 229–238, 2011. Citado 2 vezes nas páginas 26 e 31.
- 34 RANZINGER, R. et al. GlycomeDB - integration of open-access carbohydrate structure databases. *BMC bioinformatics*, v. 9, p. 384, 2008. Citado na página 28.
- 35 DOUBET S.;BOCK, K. D. A. P. A. The complex carbohydrate structure database. *Trends in Biochemical Sciences*, v. 14, n. 12, p. 475 – 477, 1989. Citado na página 28.
- 36 LÜTTEKE, T. et al. GLYCOSCIENCES.de: an Internet portal to support glycomics and glycobiology research. *Glycobiology*, v. 16, p. 71R–81R, 2006. Citado 2 vezes nas páginas 28 e 30.
- 37 HASHIMOTO, K. et al. KEGG as a glycome informatics resource. *Glycobiology*, v. 16, p. 63R–70R, 2006. Citado na página 28.
- 38 AOKI, K. F. et al. KCaM (KEGG Carbohydrate Matcher): a software tool for analyzing the structures of carbohydrate sugar chains. *Nucleic acids research*, v. 32, p. W267–72, 2004. Citado 2 vezes nas páginas 28 e 30.
- 39 COOPER, C. A. et al. GlycoSuiteDB : a new curated relational database of glycoprotein glycan structures and their biological sources. v. 29, p. 332–335, 2001. Citado 2 vezes nas páginas 28 e 30.

- 40 POL-FACHIN, L.; FERNANDES, C. L.; VERLI, H. GROMOS96 43a1 performance on the characterization of glycoprotein conformational ensembles through molecular dynamics simulations. *Carbohydr. Res.*, v. 344, p. 491–500, 2009. Citado 2 vezes nas páginas 29 e 32.
- 41 FERNANDES, C. L. et al. GROMOS96 43a1 performance in predicting oligosaccharide conformational ensembles within glycoproteins. *Carbohydr. Res.*, v. 345, p. 663–671, 2010. Citado 2 vezes nas páginas 29 e 32.
- 42 VERLI, H.; GUIMARÃES, J. A. Molecular dynamics simulation of a decasaccharide fragment of heparin in aqueous solution. *Carbohydr. Res.*, v. 339, p. 281–290, 2004. Citado 2 vezes nas páginas 29 e 32.
- 43 BECKER, C. F.; GUIMARÃES, J. A.; VERLI, H. Molecular dynamics and atomic charge calculations in the study of heparin 0conformation in aqueous solution. *Carbohydr. Res.*, v. 340, p. 1499–1507, 2005. Citado 2 vezes nas páginas 29 e 32.
- 44 ARANTES, P. R. et al. Conformational Characterization of Ipomotaosides and Their Recognition by COX-1 and 2. p. 5421–5433, 2014. Citado 2 vezes nas páginas 30 e 31.
- 45 PEDEBOS, C. et al. Atomic model and micelle dynamics of qs-21 saponin. *Molecules*, v. 19, n. 3, p. 3744, 2014. Citado na página 30.
- 46 Van Der Spoel, D. et al. GROMACS: Fast, flexible, and free. *J. Comput. Chem.*, v. 26, p. 1701–1718, 2005. Citado na página 32.
- 47 BONOMI, M. et al. PLUMED: A portable plugin for free-energy calculations with molecular dynamics. *Comput. Phys. Commun.*, v. 180, p. 1961–1972, 2009. Citado na página 32.
- 48 BORGUESAN, B. et al. Carbm: a web tool to build 3-d structures of carbohydrates. In: *Third International Society for Computational Biology Latin America X-Meeting on Bioinformatics with BSB and SoiBio (ISCB-Latin America)*. [S.l.: s.n.], 2014. p. 1. Citado na página 32.
- 49 BERMAN, H. et al. The worldwide Protein Data Bank (wwPDB): Ensuring a single, uniform archive of PDB data. *Nucleic Acids Res.*, v. 35, p. 2006–2008, 2007. Citado na página 33.
- 50 BERENDSEN, H. J. C.; GRIGERA, J. R.; STRAATSMA, T. P. The Missing Term in Effective Pair Potentials. *J. Phys. Chem.*, v. 91, p. 6269–6271, 1987. Citado na página 34.
- 51 CREMER, D.; POPLE, J. A. A General definition of ring puckering coordinates. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 97, p. 1354–1358, 1975. Citado na página 34.
- 52 RAMACHANDRAN G.N.; RAMAKRISHNAN, C. S. V. Stereochemistry of polypeptide chain konfigurations. *J. Mol. Biol.*, v. 7, p. 95–99, 1963. Citado 2 vezes nas páginas 34 e 50.

-
- 53 Python Software Foundation. Python Language Reference, versão 2.7. Disponível em: <<http://www.python.org>>. Citado na página 37.
- 54 V.S.R. RAO; P.K., Q. P. B. R. C. In: *Conformation of Carbohydrates*. [S.l.: s.n.], 1998. p. 409. ISBN 9057023156. Citado 3 vezes nas páginas 44, 49 e 50.
- 55 DEA IAIN C.M.; REES, D. A. Affinity interactions between agarose and β -1,4-glycans: a model for polysaccharide associations in algal cell walls. *Carbohydrate Polymers*. Citado 2 vezes nas páginas 49 e 50.

8 Apêndice

8.1 Estruturas e Ângulos Diedrais de Menor Energia

As listas a seguir fornecem a combinação diedral ϕ e ψ para os CEMG e CEMs de cada dissacarídeo analisado. A primeira coluna descreve a estrutura, enquanto a segunda e terceira descrevem os ângulos diedrais ϕ e ψ , respectivamente. A seguinte nomenclatura para dissacarídeos foi utilizada: Cada estrutura é composta de dois monossacarídeos que estão descritos individualmente, em termos, e separados por um hífen (-). Tomando o termo da esquerda e indo da esquerda para direita, para cada termo, tem-se a seguinte regra: o primeiro caractere faz referência a anomeria alfa (A) ou beta (B); o segundo caractere diz respeito a natureza do dissacarídeo, podendo ser altrose (E), idose (I), glicose (G), manose (M), gulose (K), talose (T), alose (N) ou galactose (L). O terceiro termo determina isomeria, podendo dextrógiro (D) ou levógiro (L), embora todos sejam de isomeria do tipo D; o número imediatamente adjacente ao hífen determina, para cada termo, o carbono envolvido na ligação glicosídica. Para o termo da esquerda, este é o quarto caractere e para o termo da direita, este é o primeiro caractere. O número sufixo entre parênteses faz referência a qual CEM está sendo analisado: O número 1 representa um CEMG, enquanto outros números representam CEMs.

8.1.1 Resultados para Metadinâmica

AED1-2AED (1)	67.17	77.91	AED1-3AND (2)	-56.38	94.02
AED1-2AED (2)	72.54	-72.51	AED1-3AND (3)	163.86	120.88
AED1-2AGD (1)	67.16	83.27	AED1-3ATD (1)	67.15	-110.15
AED1-2AGD (2)	83.27	-77.9	AED1-3ATD (2)	-45.67	-120.89
AED1-2AKD (1)	61.78	88.64	AED1-3BED (1)	61.78	94.01
AED1-2AKD (2)	-56.41	99.39	AED1-3BGD (1)	88.64	-104.76
AED1-2BLD (1)	72.54	110.13	AED1-3BGD (2)	88.64	56.41
AED1-2BLD (2)	-61.77	99.38	AED1-3BID (1)	72.54	88.65
AED1-2BLD (3)	77.91	-77.9	AED1-3BKD (1)	67.15	104.76
AED1-2BND (1)	72.5	83.28	AED1-3BKD (2)	-56.41	94.02
AED1-2BTD (1)	83.28	110.12	AED1-3BKD (3)	67.15	2.68
AED1-2BTD (2)	-61.77	99.38	AED1-3BND (1)	77.88	94.01
AED1-2BTD (3)	72.53	-72.53	AED1-4AGD (1)	77.92	94.01
AED1-3AED (1)	77.88	110.13	AED1-4AGD (2)	88.66	-45.67
AED1-3AED (2)	83.25	-45.67	AED1-4AKD (1)	72.5	-104.76
AED1-3AED (3)	-51.05	99.38	AED1-4AMD (1)	56.41	94.02
AED1-3AGD (1)	72.52	-110.14	AED1-4AMD (2)	-67.15	94.02
AED1-3AGD (2)	83.26	56.4	AED1-4AMD (3)	77.9	-51.03
AED1-3AND (1)	61.8	104.77	AED1-4AND (1)	61.78	83.26
			AED1-4BLD (1)	77.9	-104.76

AED1-4BND (1)	61.76	77.92	AGD1-4AMD (2)	88.65	-51.01
AED1-6AGD (1)	-61.67	-147.7	AGD1-4AMD (3)	-8.05	99.4
AED1-6AGD (2)	72.59	77.91	AGD1-4BKD (1)	94.02	-93.98
AED1-6AGD (3)	72.59	-142.33	AGD1-4BKD (2)	88.64	8.09
AED1-6AID (1)	77.9	-115.52	AGD1-4BKD (3)	-8.06	-99.35
AED1-6AID (2)	-61.78	-131.64	AGD1-4BND (1)	77.91	94.01
AED1-6AID (3)	61.78	136.96	AGD1-4BND (2)	99.39	-131.63
AED1-6AMD (1)	72.47	72.54	AGD1-4BND (3)	-24.17	115.5
AED1-6AMD (2)	-61.78	147.75	AGD1-6AED (1)	77.9	-131.6
AED1-6AMD (3)	136.91	-88.61	AGD1-6AED (2)	72.53	67.16
AED1-6AMD (4)	-56.41	-153.07	AGD1-6AID (1)	94.02	-104.76
AED1-6ATD (1)	67.15	-110.13	AGD1-6AID (2)	72.53	137.0
AED1-6ATD (2)	-51.04	-131.62	AGD1-6AKD (1)	88.64	-115.51
AED1-6ATD (3)	56.41	136.99	AGD1-6AKD (2)	83.27	137.0
AED1-6ATD (4)	-56.41	142.36	AGD1-6AKD (3)	72.53	34.92
AED1-6BED (1)	67.16	-126.26	AGD1-6AMD (1)	120.26	-93.99
AED1-6BED (2)	-61.78	137.0	AGD1-6AMD (2)	93.45	158.45
AED1-6BED (3)	67.16	61.78	AGD1-6AMD (3)	136.35	-196.05
AED1-6BID (1)	72.52	-120.9	AGD1-6AMD (4)	195.34	163.82
AED1-6BID (2)	-40.29	-131.64	AGD1-6AND (1)	110.02	-88.66
AED1-6BID (3)	-56.41	142.34	AGD1-6AND (2)	83.17	67.08
AED1-6BID (4)	56.41	142.34	AGD1-6AND (3)	77.79	-190.7
AED1-6BMD (1)	72.53	-104.76	AGD1-6ATD (1)	88.64	-115.51
AED1-6BMD (2)	56.42	61.78	AGD1-6ATD (2)	72.53	137.0
AED1-6BMD (3)	-61.78	126.24	AGD1-6BED (1)	99.39	-94.02
AED1-6BTD (1)	83.27	-115.52	AGD1-6BED (2)	72.52	67.16
AED1-6BTD (2)	-51.04	136.98	AGD1-6BED (3)	83.27	169.23
AED1-6BTD (3)	67.15	131.61	AGD1-6BED (4)	-142.38	-104.76
AGD1-2AID (1)	77.9	83.28	AGD1-6BMD (1)	83.3	72.46
AGD1-2AID (2)	88.65	-67.15	AGD1-6BMD (2)	120.9	-94.03
AGD1-2AID (3)	-24.17	94.02	AGD1-6BMD (3)	88.67	-196.07
AGD1-2AKD (1)	77.88	94.02	AGD1-6BTD (1)	99.38	-94.01
AGD1-2ALD (1)	77.89	77.9	AGD1-6BTD (2)	72.52	137.0
AGD1-2ALD (2)	94.01	-72.53	AID1-2AID (1)	67.16	77.88
AGD1-2ALD (3)	-24.18	88.64	AID1-2AID (2)	61.79	-88.65
AGD1-2AMD (1)	72.53	77.9	AID1-2AKD (1)	67.16	99.39
AGD1-2AMD (2)	94.02	-72.52	AID1-2ALD (1)	67.14	88.65
AGD1-2AMD (3)	-29.53	88.64	AID1-2ALD (2)	67.14	-88.64
AGD1-2ATD (1)	72.53	83.29	AID1-2AMD (1)	61.76	83.27
AGD1-2ATD (2)	94.02	-77.87	AID1-2AMD (2)	88.62	-77.89
AGD1-2ATD (3)	-29.54	99.4	AID1-2ATD (1)	61.78	72.53
AGD1-2BID (1)	77.88	104.76	AID1-2ATD (2)	67.15	-83.27
AGD1-2BID (2)	83.25	-136.98	AID1-2BED (1)	61.78	110.11
AGD1-2BMD (1)	94.01	104.76	AID1-2BED (2)	88.65	-40.31
AGD1-2BND (1)	77.9	77.89	AID1-2BGD (1)	-61.78	99.38
AGD1-2BND (2)	-24.18	104.75	AID1-2BGD (2)	72.53	115.5
AGD1-2BND (3)	88.65	-24.18	AID1-2BGD (3)	88.65	-67.16
AGD1-2BTD (1)	88.61	104.76	AID1-2BMD (1)	61.73	99.39
AGD1-2BTD (2)	99.36	-67.15	AID1-2BMD (2)	-61.81	104.76
AGD1-3AED (1)	72.5	77.89	AID1-2BMD (3)	88.59	-67.16
AGD1-3AED (2)	-29.57	88.64	AID1-3AED (1)	61.81	88.64
AGD1-3AED (3)	77.87	-24.18	AID1-3AGD (1)	67.16	-115.49
AGD1-3AKD (1)	83.28	104.75	AID1-3AGD (2)	72.53	51.05
AGD1-3AMD (1)	88.64	-110.13	AID1-3AID (1)	56.4	99.39
AGD1-3AND (1)	83.27	94.03	AID1-3AID (2)	88.63	-61.78
AGD1-3AND (2)	-18.8	94.03	AID1-3AKD (1)	61.78	94.03
AGD1-3AND (3)	72.53	-8.04	AID1-3AMD (1)	56.41	-110.14
AGD1-3BED (1)	77.91	88.65	AID1-3AMD (2)	83.28	67.16
AGD1-3BED (2)	-24.16	88.65	AID1-3ATD (1)	72.51	-115.52
AGD1-3BED (3)	72.54	-13.42	AID1-3BED (1)	67.16	88.64
AGD1-3BGD (1)	94.02	-115.51	AID1-3BGD (1)	77.9	-104.77
AGD1-3BGD (2)	99.39	61.77	AID1-3BGD (2)	83.28	51.04
AGD1-3BGD (3)	-8.05	-115.51	AID1-3BID (1)	72.52	88.63
AGD1-4AED (1)	67.12	72.56	AID1-3BTD (1)	67.15	-110.13
AGD1-4AED (2)	88.6	-50.99	AID1-3BTD (2)	72.52	51.04
AGD1-4AED (3)	-34.95	88.68	AID1-4AED (1)	61.78	77.91
AGD1-4AGD (1)	99.38	104.77	AID1-4AID (1)	99.4	-88.68
AGD1-4AGD (2)	94.01	-45.62	AID1-4ALD (1)	88.64	-99.41
AGD1-4AGD (3)	-2.69	94.03	AID1-4ATD (1)	88.64	-88.63
AGD1-4ALD (1)	94.03	-93.98	AID1-4BGD (1)	56.41	94.02
AGD1-4ALD (2)	83.29	45.68	AID1-4BGD (2)	83.27	-51.03
AGD1-4ALD (3)	-8.03	-120.84	AID1-4BID (1)	67.16	-99.39
AGD1-4AMD (1)	94.02	99.4	AID1-4BKD (1)	67.14	-104.74

AID1-4BMD (1)	56.41	94.02	AKD1-4AID (2)	83.25	8.04
AID1-4BMD (2)	88.65	-51.04	AKD1-4AID (3)	88.63	131.6
AID1-4BND (1)	67.15	77.91	AKD1-4AKD (1)	94.01	-94.01
AID1-4BTD (1)	83.26	-99.39	AKD1-4AND (1)	72.53	77.9
AID1-6AKD (1)	61.8	-120.88	AKD1-4AND (2)	83.27	-56.41
AID1-6AKD (2)	61.8	61.79	AKD1-4AND (3)	-29.55	88.65
AID1-6AKD (3)	-67.13	-131.62	AKD1-4BED (1)	77.89	115.48
AID1-6ALD (1)	77.88	-99.37	AKD1-4BED (2)	88.64	-131.63
AID1-6ALD (2)	-56.42	-136.98	AKD1-4BGD (1)	72.53	88.64
AID1-6ALD (3)	-61.79	137.0	AKD1-4BGD (2)	94.02	-51.04
AID1-6AMD (1)	61.76	-120.89	AKD1-4BGD (3)	-29.54	94.01
AID1-6AMD (2)	-67.17	136.98	AKD1-4BKD (1)	94.02	-88.64
AID1-6AMD (3)	67.13	131.61	AKD1-4BKD (2)	83.27	13.42
AID1-6AND (1)	72.53	-99.39	AKD1-4BKD (3)	-8.05	-110.13
AID1-6AND (2)	61.79	131.62	AKD1-4BLD (1)	88.65	-99.34
AID1-6AND (3)	-67.15	126.25	AKD1-4BLD (2)	-13.42	-110.08
AID1-6BED (1)	88.65	-104.76	AKD1-4BLD (3)	94.02	67.17
AID1-6BED (2)	67.16	61.78	AKD1-4BND (1)	67.16	72.53
AID1-6BED (3)	-56.41	-131.62	AKD1-4BND (2)	88.65	-45.67
AID1-6BGD (1)	61.74	-131.64	AKD1-4BND (3)	-34.9	83.27
AID1-6BGD (2)	-61.81	-142.38	AKD1-6AGD (1)	77.89	72.57
AID1-6BGD (3)	-67.18	142.31	AKD1-6AGD (2)	77.89	-142.23
AID1-6BGD (4)	67.11	142.31	AKD1-6AID (1)	83.26	-115.51
AID1-6BID (1)	72.52	-115.49	AKD1-6AID (2)	72.52	131.6
AID1-6BID (2)	-56.41	-142.35	AKD1-6ALD (1)	77.9	-120.88
AID1-6BID (3)	-56.41	137.0	AKD1-6ALD (2)	67.16	131.63
AID1-6BND (1)	72.53	-131.63	AKD1-6AND (1)	83.28	-126.26
AID1-6BND (2)	61.79	72.52	AKD1-6AND (2)	72.54	61.78
AID1-6BND (3)	-67.15	-142.37	AKD1-6ATD (1)	77.87	-120.88
AID1-6BND (4)	-56.4	142.36	AKD1-6ATD (2)	67.13	61.77
AID1-6BTD (1)	67.18	-126.27	AKD1-6BKD (1)	88.65	-104.76
AID1-6BTD (2)	61.81	147.7	AKD1-6BKD (2)	72.53	137.0
AKD1-2AND (1)	72.54	94.03	AKD1-6BLD (1)	99.42	-93.98
AKD1-2ATD (1)	77.89	83.28	AKD1-6BLD (2)	77.93	147.69
AKD1-2ATD (2)	88.63	-77.89	AKD1-6BLD (3)	77.93	-196.02
AKD1-2ATD (3)	-24.18	88.65	AKD1-6BMD (1)	131.6	-88.63
AKD1-2BED (1)	93.91	110.12	AKD1-6BMD (2)	72.51	61.79
AKD1-2BED (2)	93.91	-34.93	AKD1-6BMD (3)	142.35	-190.71
AKD1-2BED (3)	88.54	-137.0	AKD1-6BND (1)	77.85	-131.6
AKD1-2BGD (1)	88.64	99.39	AKD1-6BND (2)	99.34	142.37
AKD1-2BGD (2)	94.02	-61.78	ALD1-2AKD (1)	72.5	88.64
AKD1-2BID (1)	83.25	115.5	ALD1-2AKD (2)	83.24	-13.43
AKD1-2BKD (1)	72.54	72.53	ALD1-2AKD (3)	-29.57	104.76
AKD1-2BKD (2)	88.66	-29.55	ALD1-2ALD (1)	72.54	72.52
AKD1-2BKD (3)	88.66	174.61	ALD1-2AND (1)	77.89	99.41
AKD1-2BMD (1)	77.91	99.39	ALD1-2BED (1)	83.27	115.51
AKD1-2BMD (2)	94.03	-56.41	ALD1-2BGD (1)	88.64	104.77
AKD1-2BMD (3)	-24.16	99.39	ALD1-2BGD (2)	99.39	-67.16
AKD1-2BND (1)	77.9	88.64	ALD1-2BGD (3)	-13.44	110.14
AKD1-2BND (2)	104.76	-13.44	ALD1-2BLD (1)	94.01	104.77
AKD1-2BND (3)	-24.18	94.01	ALD1-2BLD (2)	94.01	-67.15
AKD1-2BTD (1)	77.9	104.77	ALD1-2BLD (3)	-45.67	99.39
AKD1-2BTD (2)	99.39	-51.04	ALD1-2BMD (1)	88.66	99.39
AKD1-2BTD (3)	-24.18	94.02	ALD1-2BTD (1)	94.0	104.76
AKD1-3AED (1)	72.55	83.28	ALD1-2BTD (2)	99.37	-61.78
AKD1-3AED (2)	-29.52	94.02	ALD1-3AGD (1)	94.01	-120.85
AKD1-3AED (3)	83.29	-18.8	ALD1-3AGD (2)	99.38	56.43
AKD1-3AMD (1)	77.87	-110.12	ALD1-3AID (1)	83.29	83.28
AKD1-3AMD (2)	99.36	83.28	ALD1-3AID (2)	77.91	-18.8
AKD1-3AMD (3)	-24.2	-120.86	ALD1-3AID (3)	-18.78	83.28
AKD1-3ATD (1)	83.27	-110.14	ALD1-3AKD (1)	94.04	110.14
AKD1-3BGD (1)	88.63	-120.74	ALD1-3ALD (1)	77.92	-120.87
AKD1-3BGD (2)	94.0	56.48	ALD1-3ALD (2)	94.03	51.04
AKD1-3BKD (1)	83.25	104.79	ALD1-3ALD (3)	83.29	153.12
AKD1-3BKD (2)	77.88	2.74	ALD1-3AMD (1)	99.39	-77.9
AKD1-3BKD (3)	-18.81	104.79	ALD1-3ATD (1)	83.28	-110.13
AKD1-3BND (1)	77.81	99.34	ALD1-3BLD (1)	83.28	-120.88
AKD1-3BND (2)	72.44	-2.71	ALD1-3BLD (2)	94.02	51.04
AKD1-3BND (3)	-24.24	99.34	ALD1-3BND (1)	72.56	94.02
AKD1-3BTD (1)	83.27	-110.15	ALD1-3BND (2)	-29.5	104.76
AKD1-4AED (1)	72.54	77.9	ALD1-3BND (3)	83.3	-8.06
AKD1-4AGD (1)	99.4	104.77	ALD1-3BTD (1)	83.26	-104.77
AKD1-4AID (1)	94.0	-94.02	ALD1-4AED (1)	72.51	72.51

ALD1-4AED (2)	88.63	-51.05	AMD1-3BID (2)	-24.2	88.65
ALD1-4AED (3)	-29.56	88.63	AMD1-3BID (3)	67.13	-13.43
ALD1-4AKD (1)	99.41	-88.63	AMD1-3BKD (1)	72.58	94.02
ALD1-4ALD (1)	93.97	-104.75	AMD1-3BND (1)	72.52	94.01
ALD1-4ALD (2)	93.97	56.41	AMD1-3BND (2)	-29.55	99.38
ALD1-4ALD (3)	-8.1	-120.87	AMD1-3BND (3)	72.52	-8.07
ALD1-4BGD (1)	88.66	99.39	AMD1-4AED (1)	72.53	77.89
ALD1-4BGD (2)	94.03	-45.67	AMD1-4AED (2)	83.27	-51.04
ALD1-4BID (1)	93.99	-93.98	AMD1-4AED (3)	-29.55	88.63
ALD1-4BID (2)	83.24	8.09	AMD1-4AGD (1)	77.9	94.03
ALD1-4BID (3)	93.99	131.64	AMD1-4AGD (2)	83.28	-56.39
ALD1-4BLD (1)	94.02	-94.04	AMD1-4AGD (3)	-24.17	94.03
ALD1-4BLD (2)	94.02	61.74	AMD1-4AID (1)	-3.27	-9.39
ALD1-4BLD (3)	-45.64	-110.15	AMD1-4AID (2)	-6.9	92.32
ALD1-6AED (1)	88.63	-104.76	AMD1-4AKD (1)	88.64	-88.69
ALD1-6AED (2)	94.0	137.0	AMD1-4AKD (2)	72.52	13.37
ALD1-6AGD (1)	88.66	-110.15	AMD1-4AKD (3)	-13.43	-104.8
ALD1-6AGD (2)	72.54	67.14	AMD1-4AND (1)	72.52	72.51
ALD1-6AGD (3)	77.91	169.21	AMD1-4AND (2)	83.27	-56.42
ALD1-6AGD (4)	-13.42	-126.26	AMD1-4AND (3)	-51.04	83.26
ALD1-6AKD (1)	99.39	-94.02	AMD1-4BGD (1)	83.28	94.02
ALD1-6AKD (2)	77.9	131.62	AMD1-4BGD (2)	83.28	-56.39
ALD1-6AMD (1)	94.01	-99.39	AMD1-4BKD (1)	88.65	-88.62
ALD1-6AMD (2)	72.52	67.15	AMD1-4BKD (2)	83.28	56.43
ALD1-6AMD (3)	-29.55	131.62	AMD1-4BKD (3)	-13.43	-99.36
ALD1-6AMD (4)	-8.06	-126.26	AMD1-4BMD (1)	77.88	94.03
ALD1-6AND (1)	88.64	-104.75	AMD1-4BMD (2)	88.62	-45.65
ALD1-6AND (2)	67.15	61.79	AMD1-4BND (1)	72.54	72.52
ALD1-6BGD (1)	88.66	-110.07	AMD1-4BTD (1)	88.63	-94.02
ALD1-6BGD (2)	83.29	131.65	AMD1-4BTD (2)	77.89	8.05
ALD1-6BID (1)	88.66	-110.13	AMD1-4BTD (3)	-13.43	-115.51
ALD1-6BID (2)	77.92	142.37	AMD1-6AID (1)	88.64	-115.52
ALD1-6BID (3)	72.55	40.3	AMD1-6AID (2)	72.52	131.61
ALD1-6BID (4)	-158.43	-110.13	AMD1-6AKD (1)	94.01	-104.77
ALD1-6BND (1)	94.02	-104.74	AMD1-6AKD (2)	72.52	131.63
ALD1-6BND (2)	77.9	67.17	AMD1-6ALD (1)	88.64	-104.75
ALD1-6BTD (1)	99.4	-94.02	AMD1-6ALD (2)	77.9	137.0
ALD1-6BTD (2)	72.54	131.62	AMD1-6AMD (1)	72.51	61.81
ALD1-6BTD (3)	72.54	29.55	AMD1-6AMD (2)	94.0	-88.59
ALD1-6BTD (4)	-2.66	-137.0	AMD1-6AND (1)	83.25	-120.88
AMD1-2AED (1)	72.53	83.27	AMD1-6AND (2)	72.51	136.98
AMD1-2AGD (1)	72.53	77.9	AMD1-6ATD (1)	99.4	-88.64
AMD1-2AGD (2)	88.65	-72.53	AMD1-6ATD (2)	72.53	142.37
AMD1-2ALD (1)	72.54	77.89	AMD1-6BED (1)	72.56	72.52
AMD1-2ALD (2)	83.28	-72.53	AMD1-6BED (2)	94.04	-88.64
AMD1-2AMD (1)	72.52	77.9	AMD1-6BGD (1)	88.65	-99.39
AMD1-2AMD (2)	88.64	-72.53	AMD1-6BGD (2)	72.54	72.53
AMD1-2AMD (3)	-29.54	94.01	AMD1-6BGD (3)	-61.77	-137.0
AMD1-2AND (1)	67.17	94.01	AMD1-6BID (1)	93.97	-94.02
AMD1-2AND (2)	77.91	-8.07	AMD1-6BID (2)	72.48	61.78
AMD1-2AND (3)	-34.9	110.12	AMD1-6BLD (1)	88.65	-120.87
AMD1-2BKD (1)	72.53	104.76	AMD1-6BLD (2)	88.65	142.37
AMD1-2BTD (1)	77.92	104.75	AMD1-6BMD (1)	77.89	-137.0
AMD1-2BTD (2)	94.04	-56.41	AMD1-6BMD (2)	77.89	153.09
AMD1-2BTD (3)	-61.75	94.01	AMD1-6BND (1)	83.24	-110.14
AMD1-3AGD (1)	88.63	-99.39	AMD1-6BND (2)	67.12	67.16
AMD1-3AGD (2)	88.63	56.41	AMD1-6BND (3)	72.5	169.23
AMD1-3AGD (3)	-13.44	-115.51	AMD1-6BND (4)	-18.83	-120.88
AMD1-3AID (1)	72.59	77.89	AMD1-6BTD (1)	99.38	-83.27
AMD1-3AID (2)	-29.45	83.26	AMD1-6BTD (2)	72.52	131.63
AMD1-3AID (3)	77.96	-24.18	AND1-2AGD (1)	72.54	77.91
AMD1-3AKD (1)	77.86	99.39	AND1-2AND (1)	67.15	88.65
AMD1-3ALD (1)	83.26	-120.88	AND1-2BED (1)	77.9	110.14
AMD1-3ALD (2)	88.63	56.41	AND1-2BED (2)	88.64	-34.92
AMD1-3ALD (3)	-18.81	-120.88	AND1-2BID (1)	72.52	110.14
AMD1-3AMD (1)	83.27	-104.77	AND1-2BID (2)	99.38	-40.29
AMD1-3AMD (2)	88.65	88.65	AND1-2BID (3)	88.64	-142.37
AMD1-3AMD (3)	-18.8	-110.14	AND1-2BMD (1)	77.9	99.38
AMD1-3ATD (1)	83.27	-104.76	AND1-2BMD (2)	99.39	-45.67
AMD1-3BGD (1)	83.27	-115.51	AND1-2BMD (3)	-24.18	99.38
AMD1-3BGD (2)	83.27	51.03	AND1-2BND (1)	72.53	77.89
AMD1-3BGD (3)	-18.8	-120.88	AND1-2BTD (1)	77.91	99.37
AMD1-3BID (1)	77.87	88.65	AND1-2BTD (2)	94.03	-45.68

AND1-2BTD (3)	-24.17	94.0	ATD1-2ALD (2)	83.26	-72.54
AND1-3AID (1)	72.52	83.26	ATD1-2ALD (3)	-29.55	88.63
AND1-3AKD (1)	72.53	104.76	ATD1-2AND (1)	77.89	94.02
AND1-3AMD (1)	83.28	-104.71	ATD1-2AND (2)	77.89	-8.06
AND1-3AND (1)	94.0	104.78	ATD1-2AND (3)	-24.17	104.76
AND1-3AND (2)	-8.07	110.15	ATD1-2ATD (1)	72.49	83.29
AND1-3AND (3)	72.51	2.72	ATD1-2ATD (2)	83.24	-72.5
AND1-3BED (1)	77.92	83.27	ATD1-2ATD (3)	-29.57	94.03
AND1-3BED (2)	-24.14	88.65	ATD1-2BED (1)	77.91	110.14
AND1-3BED (3)	72.55	-18.8	ATD1-2BED (2)	88.65	-142.36
AND1-3BGD (1)	88.65	-115.5	ATD1-2BKD (1)	72.49	72.53
AND1-3BGD (2)	88.65	56.42	ATD1-2BKD (2)	83.23	-29.54
AND1-3BGD (3)	-13.42	-120.87	ATD1-2BKD (3)	-29.57	88.65
AND1-3BID (1)	72.52	83.26	ATD1-2BLD (1)	77.91	110.11
AND1-3BLD (1)	83.25	-120.87	ATD1-2BLD (2)	94.02	-51.05
AND1-3BTD (1)	94.01	-88.64	ATD1-2BMD (1)	77.9	104.72
AND1-3BTD (2)	83.27	51.04	ATD1-2BMD (2)	83.27	-72.55
AND1-3BTD (3)	77.9	153.12	ATD1-2BMD (3)	-51.04	88.61
AND1-4AKD (1)	94.04	-93.92	ATD1-2BND (1)	77.9	83.27
AND1-4AKD (2)	77.92	8.12	ATD1-2BTD (1)	72.53	99.39
AND1-4AKD (3)	-8.03	-110.03	ATD1-2BTD (2)	88.65	-61.79
AND1-4ALD (1)	93.97	-94.04	ATD1-2BTD (3)	-29.55	99.39
AND1-4ALD (2)	-8.09	-115.53	ATD1-3AED (1)	72.52	83.28
AND1-4ALD (3)	88.59	61.75	ATD1-3AKD (1)	77.88	99.39
AND1-4AND (1)	72.52	77.91	ATD1-3AKD (2)	72.51	-2.69
AND1-4ATD (1)	93.98	-93.93	ATD1-3AKD (3)	83.26	-147.74
AND1-4ATD (2)	77.86	8.12	ATD1-3ATD (1)	94.01	-88.63
AND1-4ATD (3)	83.23	120.91	ATD1-3BED (1)	77.92	88.67
AND1-4BED (1)	72.52	72.53	ATD1-3BED (2)	-24.14	88.67
AND1-4BGD (1)	77.9	94.02	ATD1-3BED (3)	72.55	-13.39
AND1-4BGD (2)	88.64	-45.67	ATD1-3BGD (1)	77.89	-120.86
AND1-4BID (1)	-50.59	-127.48	ATD1-3BGD (2)	99.38	67.17
AND1-4BID (2)	49.77	-153.99	ATD1-3BID (1)	77.9	88.67
AND1-4BID (3)	-150.95	-95.68	ATD1-3BID (2)	-24.17	88.67
AND1-4BND (1)	72.55	77.85	ATD1-3BID (3)	77.9	-13.39
AND1-4BND (2)	83.29	-56.43	ATD1-3BTD (1)	88.65	-94.03
AND1-4BND (3)	-29.52	83.22	ATD1-4AID (1)	83.26	-99.39
AND1-4BTD (1)	56.0	-149.08	ATD1-4AID (2)	88.63	2.68
AND1-4BTD (2)	-50.74	-119.97	ATD1-4AID (3)	-18.81	-104.76
AND1-4BTD (3)	62.28	171.13	ATD1-4AKD (1)	94.03	-88.64
AND1-6AGD (1)	77.91	-120.88	ATD1-4AKD (2)	77.91	13.43
AND1-6AGD (2)	77.91	67.14	ATD1-4AKD (3)	-8.05	-104.76
AND1-6AKD (1)	88.62	-110.14	ATD1-4AMD (1)	77.9	88.61
AND1-6AKD (2)	72.51	136.98	ATD1-4AMD (2)	88.64	-51.05
AND1-6ALD (1)	72.4	153.12	ATD1-4BED (1)	77.91	77.9
AND1-6ALD (2)	83.14	-158.42	ATD1-4BED (2)	77.91	-61.78
AND1-6AMD (1)	72.56	61.81	ATD1-4BED (3)	-24.16	83.27
AND1-6AMD (2)	72.56	-131.56	ATD1-4BGD (1)	77.89	94.02
AND1-6AND (1)	88.66	-104.75	ATD1-4BID (1)	93.98	-88.66
AND1-6AND (2)	72.55	67.16	ATD1-4BID (2)	-8.08	-104.78
AND1-6BGD (1)	77.9	131.61	ATD1-4BID (3)	83.24	13.4
AND1-6BGD (2)	88.65	-104.76	ATD1-4BKD (1)	99.38	-83.27
AND1-6BID (1)	115.51	-83.27	ATD1-4BMD (1)	72.54	88.61
AND1-6BID (2)	77.9	77.9	ATD1-4BND (1)	7.93	7.59
AND1-6BID (3)	72.53	179.98	ATD1-4BTD (1)	88.65	-94.01
AND1-6BID (4)	13.44	-142.37	ATD1-6AED (1)	88.64	-99.39
AND1-6BLD (1)	77.88	-120.89	ATD1-6AED (2)	67.15	67.16
AND1-6BLD (2)	77.88	136.98	ATD1-6AGD (1)	88.65	-110.13
AND1-6BMD (1)	72.59	72.53	ATD1-6AGD (2)	72.53	67.15
AND1-6BMD (2)	83.33	-147.67	ATD1-6AGD (3)	190.71	-99.39
ATD1-2AED (1)	77.91	88.62	ATD1-6AID (1)	77.88	-126.26
ATD1-2AED (2)	83.28	-72.54	ATD1-6AID (2)	77.88	142.36
ATD1-2AED (3)	-24.17	88.62	ATD1-6AID (3)	72.51	40.28
ATD1-2AGD (1)	72.54	77.89	ATD1-6AKD (1)	83.28	-120.88
ATD1-2AGD (2)	83.28	-77.91	ATD1-6AKD (2)	72.53	131.61
ATD1-2AGD (3)	-29.54	88.63	ATD1-6AND (1)	72.53	61.84
ATD1-2AID (1)	77.91	94.02	ATD1-6AND (2)	83.27	-131.51
ATD1-2AID (2)	83.28	-67.15	ATD1-6AND (3)	185.32	-142.25
ATD1-2AID (3)	-24.17	94.02	ATD1-6ATD (1)	88.66	-115.51
ATD1-2AKD (1)	72.51	88.64	ATD1-6ATD (2)	67.17	131.63
ATD1-2AKD (2)	83.26	-13.43	ATD1-6BED (1)	72.44	67.22
ATD1-2AKD (3)	-29.55	99.39	ATD1-6BED (2)	126.15	-93.9
ATD1-2ALD (1)	72.52	77.89	ATD1-6BED (3)	83.18	-195.94

ATD1-6BLD (1)	88.64	-110.14	BED1-6BED (3)	51.04	147.75
ATD1-6BLD (2)	67.15	137.0	BED1-6BGD (1)	-67.16	-94.02
ATD1-6BMD (1)	99.37	-142.36	BED1-6BGD (2)	-83.28	83.26
ATD1-6BMD (2)	142.32	158.49	BED1-6BKD (1)	-67.12	-88.64
ATD1-6BMD (3)	201.38	-158.48	BED1-6BKD (2)	61.8	-104.76
ATD1-6BND (1)	136.98	-88.65	BED1-6BKD (3)	-72.49	137.0
ATD1-6BND (2)	94.07	158.45	BED1-6BLD (1)	-67.16	-115.51
ATD1-6BND (3)	147.71	-190.71	BED1-6BLD (2)	45.66	-120.88
BED1-2AGD (1)	-72.54	104.76	BED1-6BLD (3)	-67.16	137.0
BED1-2AGD (2)	-77.91	-77.91	BED1-6BTD (1)	-67.16	-94.03
BED1-2AID (1)	-72.52	110.12	BED1-6BTD (2)	51.03	-126.26
BED1-2AID (2)	40.3	120.86	BED1-6BTD (3)	-142.37	147.73
BED1-2AID (3)	-67.15	-51.05	BGD1-2AGD (1)	-77.9	104.75
BED1-2AKD (1)	-72.55	104.74	BGD1-2AGD (2)	-83.28	-67.16
BED1-2AKD (2)	-67.18	-56.42	BGD1-2AKD (1)	-77.9	115.48
BED1-2ALD (1)	-67.15	110.14	BGD1-2AND (1)	-72.53	110.14
BED1-2ALD (2)	-83.27	-77.9	BGD1-2ATD (1)	-99.4	77.91
BED1-2AMD (1)	-88.63	94.02	BGD1-2ATD (2)	-77.91	-67.15
BED1-2AMD (2)	-77.89	-72.53	BGD1-2BGD (1)	-72.53	110.14
BED1-2AND (1)	-72.53	110.13	BGD1-2BGD (2)	-83.27	-61.78
BED1-2AND (2)	-72.53	-35.06	BGD1-2BGD (3)	61.78	126.26
BED1-2ATD (1)	-67.14	110.13	BGD1-2BKD (1)	-77.91	110.16
BED1-2ATD (2)	-77.88	-77.9	BGD1-2BKD (2)	-67.16	-45.62
BED1-2BGD (1)	-72.52	110.14	BGD1-2BLD (1)	-77.89	104.76
BED1-2BGD (2)	-77.89	-61.77	BGD1-2BLD (2)	-88.64	-56.41
BED1-2BKD (1)	-72.53	104.76	BGD1-2BLD (3)	67.16	131.62
BED1-2BKD (2)	-67.16	-45.67	BGD1-2BMD (1)	-72.53	104.76
BED1-2BLD (1)	-67.15	110.14	BGD1-2BMD (2)	61.79	126.25
BED1-2BLD (2)	-72.52	-56.41	BGD1-2BMD (3)	-94.02	-61.79
BED1-2BMD (1)	-77.9	104.76	BGD1-2BND (1)	-77.89	110.14
BED1-2BMD (2)	-67.16	-51.04	BGD1-2BND (2)	-67.15	-45.66
BED1-2BND (1)	-77.91	104.76	BGD1-2BTD (1)	-77.9	104.77
BED1-2BND (2)	-61.79	-45.66	BGD1-2BTD (2)	-72.53	-51.02
BED1-2BTD (1)	-77.9	104.77	BGD1-3AED (1)	-83.27	94.02
BED1-2BTD (2)	-72.53	-56.4	BGD1-3AGD (1)	-72.55	-110.14
BED1-3AED (1)	-77.9	99.39	BGD1-3AGD (2)	-88.67	61.78
BED1-3AGD (1)	-67.15	-110.13	BGD1-3ALD (1)	-67.15	-99.39
BED1-3AGD (2)	-77.9	61.76	BGD1-3ALD (2)	-72.52	61.78
BED1-3AID (1)	-83.26	94.01	BGD1-3BED (1)	-88.65	88.65
BED1-3ALD (1)	-67.15	-104.77	BGD1-3BGD (1)	-67.16	-94.0
BED1-3ALD (2)	-83.27	51.04	BGD1-3BGD (2)	61.78	-99.37
BED1-3AMD (1)	-61.77	-72.51	BGD1-3BGD (3)	-83.27	67.17
BED1-3AMD (2)	-67.14	83.28	BGD1-3BID (1)	-67.17	110.13
BED1-3BED (1)	-61.75	115.51	BGD1-3BKD (1)	-72.52	110.14
BED1-3BGD (1)	-67.15	-104.75	BGD1-3BLD (1)	-61.78	-88.65
BED1-3BGD (2)	-83.26	56.41	BGD1-3BLD (2)	61.79	-94.02
BED1-3BKD (1)	-72.51	104.76	BGD1-3BMD (1)	-61.78	-72.54
BED1-3BLD (1)	-67.14	-110.13	BGD1-3BMD (2)	-67.15	83.26
BED1-3BLD (2)	-77.88	51.04	BGD1-3BND (1)	-77.92	99.39
BED1-3BND (1)	-77.9	110.13	BGD1-4ALD (1)	-71.07	-99.64
BED1-4AED (1)	-99.4	83.29	BGD1-4ALD (2)	-71.07	-201.52
BED1-4AED (2)	-67.16	-51.01	BGD1-4BID (1)	-67.16	-77.91
BED1-4AGD (1)	-72.5	104.77	BGD1-4BID (2)	56.41	-88.66
BED1-4AGD (2)	-67.13	-45.66	BGD1-4BKD (1)	-67.13	-83.23
BED1-4AID (1)	-67.16	-83.28	BGD1-4BKD (2)	56.43	-93.97
BED1-4AKD (1)	-67.12	-83.25	BGD1-4BLD (1)	-67.15	-99.39
BED1-4BED (1)	-67.16	99.39	BGD1-4BND (1)	-77.89	99.4
BED1-4BGD (1)	-72.55	104.8	BGD1-4BTD (1)	-61.77	-94.02
BED1-4BGD (2)	-72.55	-45.61	BGD1-6AED (1)	-72.53	-94.01
BED1-4BND (1)	-56.4	104.77	BGD1-6AED (2)	67.16	-104.75
BED1-4BND (2)	-77.89	-56.4	BGD1-6AED (3)	-94.02	72.53
BED1-4BTD (1)	-67.15	-94.02	BGD1-6AED (4)	56.41	153.11
BED1-6AGD (1)	-72.53	-83.27	BGD1-6ALD (1)	-72.51	-115.5
BED1-6AGD (2)	56.41	-104.76	BGD1-6ALD (2)	67.17	-115.5
BED1-6AGD (3)	-77.9	72.53	BGD1-6ALD (3)	-67.14	142.36
BED1-6AID (1)	-72.54	-104.76	BGD1-6ALD (4)	56.42	147.73
BED1-6AID (2)	61.77	-88.65	BGD1-6ATD (1)	-72.52	-110.13
BED1-6AID (3)	-67.17	137.0	BGD1-6ATD (2)	61.79	-126.25
BED1-6AND (1)	-67.14	-88.64	BGD1-6ATD (3)	-72.52	126.25
BED1-6AND (2)	-153.09	77.91	BGD1-6ATD (4)	77.9	142.37
BED1-6AND (3)	61.79	-94.01	BGD1-6BGD (1)	-77.88	-94.02
BED1-6BED (1)	-61.77	-77.89	BGD1-6BGD (2)	-77.88	142.37
BED1-6BED (2)	-72.52	131.63	BGD1-6BGD (3)	67.16	-137.0

BGD1-6BGD (4)	61.79	153.11	BKD1-2BKD (1)	-77.86	110.14
BGD1-6BID (1)	-136.97	142.37	BKD1-2BKD (2)	-72.49	-45.66
BGD1-6BID (2)	-72.51	-94.0	BKD1-2BLD (1)	-77.91	104.76
BGD1-6BID (3)	72.54	-142.35	BKD1-2BLD (2)	-72.53	-51.04
BGD1-6BID (4)	67.17	158.48	BKD1-2BMD (1)	-77.91	110.14
BID1-2AED (1)	-72.53	115.49	BKD1-2BMD (2)	-88.65	-56.41
BID1-2AED (2)	-61.78	-51.04	BKD1-2BTD (1)	-77.89	110.13
BID1-2AID (1)	-72.5	110.14	BKD1-2BTD (2)	-67.15	-45.67
BID1-2AID (2)	-72.5	-35.06	BKD1-2BTD (3)	61.79	126.25
BID1-2AID (3)	29.57	120.88	BKD1-3AED (1)	-77.85	99.4
BID1-2AMD (1)	-72.52	104.76	BKD1-3AGD (1)	-67.15	-94.02
BID1-2AMD (2)	-83.26	-77.9	BKD1-3AGD (2)	-88.64	61.79
BID1-2AND (1)	-67.16	110.14	BKD1-3AID (1)	-72.53	110.12
BID1-2AND (2)	-56.42	-51.04	BKD1-3ALD (1)	-67.16	-99.38
BID1-2ATD (1)	-72.52	110.15	BKD1-3ALD (2)	56.41	-99.38
BID1-2ATD (2)	-77.89	-83.25	BKD1-3ALD (3)	-77.9	56.42
BID1-2BID (1)	-72.53	104.75	BKD1-3ATD (1)	-72.52	-83.26
BID1-2BID (2)	-67.16	-45.68	BKD1-3ATD (2)	-67.15	72.53
BID1-2BND (1)	-67.14	110.12	BKD1-3BED (1)	-72.53	104.77
BID1-2BND (2)	-67.14	-40.3	BKD1-3BGD (1)	-77.91	-115.51
BID1-3AED (1)	-77.89	99.39	BKD1-3BGD (2)	61.76	-99.39
BID1-3AKD (1)	-72.52	110.14	BKD1-3BID (1)	-67.17	115.51
BID1-3ALD (1)	-61.79	-104.77	BKD1-3BID (2)	56.39	120.88
BID1-3ALD (2)	56.41	-88.65	BKD1-3BID (3)	-83.28	13.43
BID1-3ALD (3)	-77.9	51.03	BKD1-3BKD (1)	-67.16	110.13
BID1-3ATD (1)	-67.13	-77.9	BKD1-3BLD (1)	-72.52	-104.76
BID1-3BED (1)	-77.9	110.14	BKD1-3BLD (2)	-77.9	45.66
BID1-3BGD (1)	-67.16	-104.74	BKD1-4AED (1)	-77.89	94.0
BID1-3BGD (2)	-72.53	72.53	BKD1-4ALD (1)	-67.16	-94.02
BID1-3BMD (1)	-61.76	-77.88	BKD1-4AMD (1)	-72.53	110.15
BID1-3BMD (2)	-61.76	83.29	BKD1-4AMD (2)	-67.16	-45.65
BID1-4AGD (1)	-72.53	104.76	BKD1-4ATD (1)	-61.78	-83.25
BID1-4AGD (2)	-67.16	-45.67	BKD1-4ATD (2)	61.78	-94.0
BID1-4AKD (1)	-67.18	-88.65	BKD1-4ATD (3)	-67.15	104.77
BID1-4AMD (1)	-72.49	104.76	BKD1-4BGD (1)	-72.53	104.76
BID1-4AMD (2)	-67.12	-45.66	BKD1-4BGD (2)	-72.53	-45.66
BID1-4AND (1)	-77.89	94.01	BKD1-4BLD (1)	-67.16	-93.97
BID1-4AND (2)	-72.52	-51.05	BKD1-4BLD (2)	61.78	-93.97
BID1-4BED (1)	-72.51	99.39	BKD1-4BLD (3)	-72.53	51.07
BID1-4BID (1)	-72.54	-83.26	BKD1-4BMD (1)	-72.53	104.77
BID1-4BKD (1)	-67.17	-83.27	BKD1-4BMD (2)	-67.16	-45.66
BID1-4BLD (1)	-67.15	-94.0	BKD1-4BND (1)	-56.41	104.77
BID1-4BMD (1)	-77.91	99.38	BKD1-4BND (2)	-72.52	-51.04
BID1-4BMD (2)	-67.16	-45.67	BKD1-6AED (1)	67.16	-104.76
BID1-4BTD (1)	-72.53	-104.76	BKD1-6AED (2)	-67.15	-77.9
BID1-6AED (1)	-67.17	-88.65	BKD1-6AED (3)	-115.49	137.0
BID1-6AED (2)	-72.54	136.99	BKD1-6AGD (1)	-67.15	-88.62
BID1-6AED (3)	61.77	-99.39	BKD1-6AGD (2)	67.16	-131.59
BID1-6AMD (1)	-158.47	88.63	BKD1-6AGD (3)	-131.62	61.8
BID1-6AMD (2)	169.23	158.44	BKD1-6AKD (1)	-72.52	-110.14
BID1-6ATD (1)	-67.16	-94.02	BKD1-6AKD (2)	67.16	-115.51
BID1-6ATD (2)	61.78	-99.39	BKD1-6AKD (3)	-77.9	131.63
BID1-6ATD (3)	-67.16	126.26	BKD1-6AMD (1)	-72.51	-88.58
BID1-6BED (1)	-136.98	-136.99	BKD1-6AMD (2)	61.8	-120.81
BID1-6BED (2)	-147.73	83.28	BKD1-6AMD (3)	-136.98	72.56
BID1-6BED (3)	67.16	-115.5	BKD1-6AMD (4)	61.8	153.14
BID1-6BGD (1)	-83.28	-115.52	BKD1-6AND (1)	67.17	-120.87
BID1-6BGD (2)	-72.53	131.59	BKD1-6AND (2)	-67.11	-83.26
BID1-6BGD (3)	56.4	-99.41	BKD1-6AND (3)	-136.93	142.37
BID1-6BLD (1)	-72.52	-115.52	BKD1-6AND (4)	61.8	147.74
BID1-6BLD (2)	61.79	-99.4	BKD1-6ATD (1)	67.04	-126.26
BID1-6BLD (3)	-72.52	120.87	BKD1-6ATD (2)	-120.93	77.88
BID1-6BMD (1)	-67.1	-88.61	BKD1-6ATD (3)	-77.97	-99.4
BID1-6BMD (2)	-147.67	67.18	BKD1-6ATD (4)	77.78	163.84
BKD1-2AKD (1)	-77.89	110.14	BKD1-6BED (1)	61.78	-120.86
BKD1-2AKD (2)	-67.15	-51.04	BKD1-6BED (2)	-61.77	-83.25
BKD1-2AND (1)	-83.28	99.39	BKD1-6BED (3)	-142.35	67.17
BKD1-2AND (2)	-61.79	-45.66	BKD1-6BGD (1)	-67.16	-94.02
BKD1-2AND (3)	51.03	120.88	BKD1-6BGD (2)	67.14	-115.5
BKD1-2BED (1)	-72.54	115.5	BKD1-6BGD (3)	-72.53	131.62
BKD1-2BED (2)	-67.16	-45.67	BKD1-6BID (1)	61.78	-131.62
BKD1-2BID (1)	-77.89	104.76	BKD1-6BID (2)	-72.52	-94.01
BKD1-2BID (2)	-72.52	-45.67	BKD1-6BID (3)	61.78	147.74

BKD1-6BID (4)	-136.99	72.53	BLD1-6BLD (4)	-110.12	61.78
BKD1-6BND (1)	-72.53	-83.27	BLD1-6BTD (1)	-72.52	-104.77
BKD1-6BND (2)	61.78	-120.87	BLD1-6BTD (2)	67.16	-115.52
BKD1-6BND (3)	-67.16	142.38	BLD1-6BTD (3)	-77.89	136.98
BKD1-6BND (4)	56.4	147.75	BMD1-2AID (1)	-72.53	115.51
BLD1-2AED (1)	-77.9	104.76	BMD1-2AID (2)	-67.15	-56.41
BLD1-2AED (2)	-67.16	-51.04	BMD1-2AKD (1)	-67.16	104.76
BLD1-2AGD (1)	-83.27	104.75	BMD1-2AKD (2)	40.29	126.25
BLD1-2AGD (2)	-77.9	-72.54	BMD1-2AKD (3)	-61.79	-51.04
BLD1-2AKD (1)	-77.91	110.14	BMD1-2AND (1)	-77.88	99.36
BLD1-2AKD (2)	51.03	120.89	BMD1-2ATD (1)	-67.15	104.77
BLD1-2ATD (1)	-72.52	104.76	BMD1-2ATD (2)	-77.9	-67.15
BLD1-2ATD (2)	-83.27	-77.9	BMD1-2BKD (1)	-72.52	104.76
BLD1-2BED (1)	-72.54	104.77	BMD1-2BKD (2)	-61.78	-45.67
BLD1-2BED (2)	-67.17	-45.65	BMD1-3ATD (1)	-61.78	-77.9
BLD1-2BID (1)	-77.87	115.5	BMD1-3BED (1)	-77.92	99.39
BLD1-2BID (2)	56.43	126.24	BMD1-3BGD (1)	-61.76	-99.39
BLD1-2BID (3)	-72.5	-45.67	BMD1-3BGD (2)	61.8	-88.65
BLD1-2BMD (1)	-67.16	115.51	BMD1-3BGD (3)	-67.13	77.9
BLD1-2BMD (2)	-83.27	-56.41	BMD1-3BID (1)	-67.15	115.47
BLD1-2BTD (1)	-77.9	104.75	BMD1-3BKD (1)	-72.54	99.39
BLD1-2BTD (2)	-83.27	-61.79	BMD1-3BLD (1)	-61.77	-110.14
BLD1-3AED (1)	-72.52	104.75	BMD1-3BLD (2)	-83.26	51.03
BLD1-3AGD (1)	-72.53	-110.14	BMD1-3BTD (1)	-61.78	-72.55
BLD1-3AGD (2)	-77.9	72.53	BMD1-4AGD (1)	-72.51	104.76
BLD1-3AID (1)	-83.25	99.38	BMD1-4AGD (2)	-72.51	-45.66
BLD1-3AKD (1)	-72.53	110.12	BMD1-4AID (1)	-61.78	-83.27
BLD1-3ALD (1)	-72.53	-104.77	BMD1-4ALD (1)	-56.39	-88.65
BLD1-3AMD (1)	-67.16	-83.25	BMD1-4BKD (1)	-61.77	-83.27
BLD1-3ATD (1)	-67.16	-77.89	BMD1-4BMD (1)	-72.53	104.76
BLD1-3ATD (2)	-72.53	67.15	BMD1-4BMD (2)	-67.16	-45.66
BLD1-3BED (1)	-72.5	104.76	BMD1-6AID (1)	-67.17	-88.64
BLD1-3BGD (1)	-83.28	-115.52	BMD1-6AID (2)	45.64	-115.51
BLD1-3BGD (2)	61.77	-99.4	BMD1-6AID (3)	-72.54	142.36
BLD1-3BGD (3)	-94.02	67.14	BMD1-6ALD (1)	-67.16	-99.38
BLD1-3BID (1)	-72.52	110.15	BMD1-6ALD (2)	-77.91	94.03
BLD1-3BID (2)	56.42	120.89	BMD1-6ALD (3)	153.1	-142.35
BLD1-3BID (3)	-83.27	8.08	BMD1-6AND (1)	-67.16	-94.02
BLD1-3BKD (1)	-72.52	110.12	BMD1-6AND (2)	-72.53	142.37
BLD1-3BKD (2)	51.05	120.87	BMD1-6AND (3)	56.4	-99.39
BLD1-3BKD (3)	-77.89	8.05	BMD1-6ATD (1)	-61.79	-88.6
BLD1-3BLD (1)	-61.78	-104.76	BMD1-6ATD (2)	45.65	-131.57
BLD1-3BND (1)	-72.53	110.11	BMD1-6ATD (3)	-72.53	142.38
BLD1-3BND (2)	67.16	126.23	BMD1-6ATD (4)	51.02	147.76
BLD1-3BTD (1)	-67.16	-83.29	BMD1-6BID (1)	-72.51	-88.63
BLD1-4AGD (1)	-72.53	104.77	BMD1-6BID (2)	51.04	-120.86
BLD1-4AGD (2)	-83.27	-51.03	BMD1-6BID (3)	-61.77	142.38
BLD1-4AID (1)	-61.78	-83.25	BMD1-6BID (4)	45.67	147.75
BLD1-4ALD (1)	-67.14	-94.02	BMD1-6BKD (1)	-61.78	-88.63
BLD1-4ALD (2)	61.78	-94.02	BMD1-6BKD (2)	-56.41	137.01
BLD1-4ALD (3)	-72.52	61.79	BMD1-6BND (1)	-67.15	-88.65
BLD1-4ATD (1)	-61.77	-88.66	BMD1-6BND (2)	-153.11	94.02
BLD1-4BED (1)	-72.53	99.39	BMD1-6BND (3)	153.12	-142.37
BLD1-4BGD (1)	-72.53	110.13	BMD1-6BTD (1)	-94.03	-115.5
BLD1-4BGD (2)	-77.9	-45.67	BMD1-6BTD (2)	56.39	-110.12
BLD1-4BKD (1)	-61.78	-77.9	BMD1-6BTD (3)	-72.54	137.0
BLD1-4BND (1)	-72.54	99.38	BND1-2AGD (1)	-72.53	110.13
BLD1-4BTD (1)	-61.78	-88.65	BND1-2AGD (2)	-83.27	-72.53
BLD1-6AED (1)	61.76	-126.24	BND1-2AID (1)	-72.53	115.51
BLD1-6AED (2)	-72.54	-83.27	BND1-2AKD (1)	-77.9	110.12
BLD1-6AED (3)	-83.28	137.0	BND1-2AKD (2)	-67.16	-51.04
BLD1-6AED (4)	67.13	147.74	BND1-2AKD (3)	-67.16	-51.04
BLD1-6AGD (1)	67.14	-110.14	BND1-2AND (1)	-88.65	94.02
BLD1-6AGD (2)	-72.53	-131.63	BND1-2AND (2)	-67.16	-45.66
BLD1-6AGD (3)	-110.14	77.89	BND1-2ATD (1)	-88.65	94.02
BLD1-6AGD (4)	61.76	147.73	BND1-2ATD (2)	-83.28	-72.53
BLD1-6AND (1)	61.8	-153.11	BND1-2BID (1)	-77.91	110.13
BLD1-6AND (2)	-67.05	-147.74	BND1-2BID (2)	-67.17	-40.29
BLD1-6AND (3)	61.8	158.48	BND1-2BLD (1)	-77.9	110.13
BLD1-6AND (4)	-136.85	83.27	BND1-2BLD (2)	-88.64	-61.78
BLD1-6BLD (1)	-72.52	-94.02	BND1-2BMD (1)	-72.53	115.51
BLD1-6BLD (2)	61.79	-115.51	BND1-2BMD (2)	-83.27	-61.76
BLD1-6BLD (3)	61.79	153.11	BND1-2BND (1)	-72.52	115.51

BND1-2BND (2)	-67.15	-45.67	BND1-6BMD (4)	56.42	142.36
BND1-3AID (1)	-83.27	99.39	BND1-6BTD (1)	61.77	-115.5
BND1-3AKD (1)	-72.54	115.49	BND1-6BTD (2)	-77.91	-110.13
BND1-3AKD (2)	61.77	120.86	BND1-6BTD (3)	-67.16	137.0
BND1-3AKD (3)	-77.91	13.42	BTD1-2AED (1)	-67.16	115.5
BND1-3ATD (1)	-67.16	-77.91	BTD1-2AED (2)	-67.16	-51.04
BND1-3BED (1)	-77.9	99.39	BTD1-2AGD (1)	-88.64	94.01
BND1-3BID (1)	-67.15	110.14	BTD1-2AGD (2)	-77.9	-72.53
BND1-3BKD (1)	-72.54	110.13	BTD1-2AGD (3)	56.41	120.88
BND1-3BKD (2)	56.4	120.88	BTD1-2AKD (1)	-67.16	115.51
BND1-3BKD (3)	-83.28	8.06	BTD1-2AKD (2)	-61.79	-51.04
BND1-3BLD (1)	-61.79	-104.77	BTD1-2ALD (1)	-115.51	77.9
BND1-3BLD (2)	-77.9	51.03	BTD1-2ALD (2)	-72.53	-67.15
BND1-3BMD (1)	-67.15	-83.3	BTD1-2AMD (1)	-72.51	110.14
BND1-3BND (1)	-72.53	104.77	BTD1-2AMD (2)	-77.88	-72.53
BND1-4AED (1)	-83.26	94.02	BTD1-2ATD (1)	-77.9	99.39
BND1-4AED (2)	-72.52	-51.04	BTD1-2ATD (2)	-72.52	-67.14
BND1-4AGD (1)	-72.53	104.75	BTD1-2BGD (1)	-83.25	104.77
BND1-4AGD (2)	-83.28	-51.05	BTD1-2BGD (2)	-61.76	-51.04
BND1-4AID (1)	-67.15	-77.91	BTD1-2BKD (1)	-72.53	104.77
BND1-4AKD (1)	-61.78	-77.85	BTD1-2BKD (2)	-61.78	-45.66
BND1-4AKD (2)	56.41	-93.96	BTD1-2BLD (1)	-72.53	104.77
BND1-4AMD (1)	-77.89	104.75	BTD1-2BLD (2)	-72.53	-56.4
BND1-4AMD (2)	-88.64	-51.04	BTD1-2BND (1)	-77.89	104.75
BND1-4AND (1)	-72.53	99.38	BTD1-2BND (2)	-67.15	-45.67
BND1-4AND (2)	-72.53	-51.04	BTD1-2BTD (1)	-72.52	104.76
BND1-4ATD (1)	-67.17	-94.03	BTD1-2BTD (2)	-67.15	-51.04
BND1-4ATD (2)	56.4	-94.03	BTD1-3AED (1)	-72.51	104.75
BND1-4ATD (3)	-77.91	51.02	BTD1-3ALD (1)	-61.79	-94.02
BND1-4BED (1)	-77.89	99.39	BTD1-3ALD (2)	-77.91	51.04
BND1-4BID (1)	-67.16	-77.89	BTD1-3AMD (1)	-61.79	-72.53
BND1-4BID (2)	56.41	-88.64	BTD1-3AND (1)	-77.89	99.39
BND1-4BID (3)	-67.16	110.14	BTD1-3AND (2)	34.92	104.77
BND1-4BLD (1)	-61.77	-94.02	BTD1-3ATD (1)	-67.15	-83.27
BND1-4BLD (2)	61.79	-88.64	BTD1-3BGD (1)	-67.18	-99.35
BND1-6AED (1)	67.15	-147.73	BTD1-3BGD (2)	-77.93	61.81
BND1-6AED (2)	-142.37	77.91	BTD1-3BID (1)	-77.9	99.39
BND1-6AED (3)	-77.9	-88.63	BTD1-3BLD (1)	-61.78	-104.75
BND1-6AGD (1)	-72.51	-88.64	BTD1-3BLD (2)	-72.53	51.05
BND1-6AGD (2)	67.16	-120.87	BTD1-3BMD (1)	-61.77	-77.9
BND1-6AGD (3)	-77.88	131.61	BTD1-3BMD (2)	40.3	-94.02
BND1-6AID (1)	-61.78	-83.27	BTD1-3BMD (3)	-72.51	77.9
BND1-6AID (2)	61.79	-126.25	BTD1-3BND (1)	-72.52	110.11
BND1-6AID (3)	-67.15	142.36	BTD1-3BND (2)	29.56	110.11
BND1-6AKD (1)	-67.16	-83.26	BTD1-4AED (1)	-67.14	99.39
BND1-6AKD (2)	67.15	-110.12	BTD1-4AID (1)	-61.77	-83.27
BND1-6AKD (3)	-67.16	131.63	BTD1-4AKD (1)	-67.15	-83.26
BND1-6AMD (1)	67.11	-147.73	BTD1-4ALD (1)	-72.52	-104.77
BND1-6AMD (2)	-142.39	72.51	BTD1-4AMD (1)	-67.15	104.76
BND1-6AMD (3)	72.48	158.46	BTD1-4AMD (2)	-72.52	-45.67
BND1-6AMD (4)	-147.76	-153.1	BTD1-4AND (1)	-72.53	99.37
BND1-6ATD (1)	-88.61	-126.25	BTD1-4AND (2)	-77.9	-56.42
BND1-6ATD (2)	67.16	-115.51	BTD1-4BED (1)	-72.53	94.01
BND1-6ATD (3)	-77.87	142.37	BTD1-4BED (2)	-72.53	-51.04
BND1-6ATD (4)	67.16	147.74	BTD1-4BLD (1)	-67.18	-99.39
BND1-6BGD (1)	-72.56	-77.91	BTD1-4BMD (1)	-72.54	99.39
BND1-6BGD (2)	67.1	-110.14	BTD1-4BMD (2)	-61.79	-45.66
BND1-6BGD (3)	-131.64	67.14	BTD1-4BND (1)	-67.15	99.37
BND1-6BGD (4)	61.72	136.98	BTD1-4BND (2)	-72.52	-51.05
BND1-6BID (1)	67.19	-120.87	BTD1-4BTD (1)	-67.15	-99.39
BND1-6BID (2)	-67.1	-88.64	BTD1-6ALD (1)	-67.14	147.71
BND1-6BID (3)	-136.93	136.99	BTD1-6ALD (2)	-67.14	-94.03
BND1-6BID (4)	67.19	153.11	BTD1-6ALD (3)	51.04	-137.01
BND1-6BKD (1)	67.16	-110.14	BTD1-6AND (1)	-67.17	-83.29
BND1-6BKD (2)	-67.15	-94.02	BTD1-6AND (2)	-77.92	136.97
BND1-6BKD (3)	-99.38	77.9	BTD1-6AND (3)	56.38	-94.03
BND1-6BKD (4)	77.91	142.37	BTD1-6ATD (1)	-61.79	-88.65
BND1-6BLD (1)	-67.16	-83.28	BTD1-6ATD (2)	61.77	-94.02
BND1-6BLD (2)	61.76	-120.89	BTD1-6ATD (3)	-77.91	131.61
BND1-6BLD (3)	-67.16	136.97	BTD1-6ATD (4)	56.4	136.98
BND1-6BMD (1)	-61.77	-83.28	BTD1-6BKD (1)	-77.94	-147.74
BND1-6BMD (2)	61.79	-115.52	BTD1-6BKD (2)	-67.2	120.82
BND1-6BMD (3)	-77.89	136.98	BTD1-6BKD (3)	40.21	153.05

BTD1-6BKD (4)	-169.24	93.97	BTD1-6BND (3)	56.42	-99.39
BTD1-6BLD (1)	-67.16	-88.65	BTD1-6BTD (1)	-72.52	-120.88
BTD1-6BLD (2)	-72.53	137.0	BTD1-6BTD (2)	51.04	-120.88
BTD1-6BLD (3)	51.03	-99.39	BTD1-6BTD (3)	-67.15	142.37
BTD1-6BND (1)	-72.51	-83.27	BTD1-6BTD (4)	51.04	147.74
BTD1-6BND (2)	-72.51	126.25			

8.1.2 Resultados para Dinâmica Molecular (Refinamento)

			AGD1-3BGD (3)	73.0	94.0
			AGD1-4AED (1)	91.0	-97.0
			AGD1-4AED (2)	72.0	-146.0
AED1-2AED (1)	81.0	69.0	AGD1-4AGD (1)	-143.0	74.0
AED1-2AED (2)	80.0	69.0	AGD1-4AGD (3)	-102.0	92.0
AED1-2AGD (1)	59.0	78.0	AGD1-4ALD (1)	94.0	-99.0
AED1-2AGD (2)	68.0	75.0	AGD1-4AMD (1)	92.0	-93.0
AED1-2BLD (1)	68.0	124.0	AGD1-4AMD (2)	76.0	-143.0
AED1-2BLD (2)	72.0	129.0	AGD1-4BKD (1)	93.0	-99.0
AED1-2BND (1)	62.0	122.0	AGD1-4BKD (2)	97.0	-95.0
AED1-2BTD (1)	72.0	132.0	AGD1-4BKD (3)	91.0	-95.0
AED1-2BTD (3)	59.0	99.0	AGD1-4BND (2)	89.0	-99.0
AED1-3AGD (1)	70.0	107.0	AGD1-6AKD (1)	75.0	-177.0
AED1-3AND (1)	75.0	93.0	AGD1-6AKD (2)	85.0	-176.0
AED1-3AND (2)	74.0	102.0	AGD1-6AKD (3)	80.0	-177.0
AED1-3BED (1)	69.0	84.0	AGD1-6AMD (1)	84.0	172.0
AED1-3BGD (1)	67.0	115.0	AGD1-6AMD (3)	77.0	-179.0
AED1-3BID (1)	75.0	100.0	AGD1-6AND (1)	76.0	-179.0
AED1-3BKD (1)	76.0	105.0	AGD1-6AND (2)	83.0	-175.0
AED1-3BKD (2)	74.0	107.0	AGD1-6AND (3)	76.0	-180.0
AED1-3BKD (3)	74.0	106.0	AGD1-6BED (2)	74.0	-179.0
AED1-4AKD (1)	94.0	-90.0	AGD1-6BED (4)	78.0	-178.0
AED1-4AMD (1)	88.0	-95.0	AGD1-6BMD (1)	78.0	-175.0
AED1-4AMD (2)	89.0	-91.0	AGD1-6BMD (2)	82.0	-178.0
AED1-4AND (1)	90.0	-90.0	AGD1-6BTD (2)	75.0	179.0
AED1-6AMD (1)	-59.0	175.0	AID1-2AID (1)	85.0	66.0
AED1-6AMD (3)	79.0	-175.0	AID1-2AID (2)	72.0	70.0
AED1-6AMD (4)	65.0	-180.0	AID1-2AKD (1)	67.0	77.0
AED1-6ATD (1)	-55.0	175.0	AID1-2ALD (1)	62.0	78.0
AED1-6ATD (4)	-63.0	178.0	AID1-2ALD (2)	59.0	79.0
AED1-6BED (1)	-64.0	-178.0	AID1-2AMD (1)	61.0	78.0
AED1-6BID (1)	-56.0	-180.0	AID1-2AMD (2)	69.0	82.0
AED1-6BID (3)	-63.0	175.0	AID1-2ATD (1)	62.0	84.0
AED1-6BID (4)	76.0	-178.0	AID1-2ATD (2)	64.0	74.0
AED1-6BMD (1)	70.0	-170.0	AID1-2BED (1)	75.0	103.0
AED1-6BTD (1)	-62.0	-179.0	AID1-2BGD (1)	68.0	124.0
AED1-6BTD (2)	76.0	-177.0	AID1-2BGD (2)	64.0	106.0
AED1-6BTD (3)	71.0	-179.0	AID1-2BGD (3)	59.0	104.0
AGD1-2AID (1)	72.0	77.0	AID1-2BMD (1)	60.0	119.0
AGD1-2AID (2)	78.0	80.0	AID1-2BMD (2)	65.0	115.0
AGD1-2AID (3)	74.0	78.0	AID1-2BMD (3)	73.0	110.0
AGD1-2ALD (1)	76.0	81.0	AID1-3AGD (1)	73.0	96.0
AGD1-2ALD (2)	69.0	76.0	AID1-3AGD (2)	76.0	85.0
AGD1-2ALD (3)	73.0	76.0	AID1-3BGD (1)	72.0	104.0
AGD1-2AMD (1)	73.0	74.0	AID1-3BGD (2)	71.0	79.0
AGD1-2AMD (2)	70.0	84.0	AID1-3BID (1)	76.0	91.0
AGD1-2ATD (1)	70.0	82.0	AID1-3BTD (1)	74.0	80.0
AGD1-2ATD (2)	69.0	78.0	AID1-4AED (1)	89.0	-90.0
AGD1-2ATD (3)	72.0	82.0	AID1-4ATD (1)	90.0	-96.0
AGD1-2BID (2)	79.0	118.0	AID1-4BGD (1)	88.0	-90.0
AGD1-2BMD (1)	66.0	93.0	AID1-4BGD (2)	70.0	-122.0
AGD1-2BND (1)	77.0	103.0	AID1-4BID (1)	87.0	-96.0
AGD1-2BND (2)	87.0	129.0	AID1-4BKD (1)	89.0	-89.0
AGD1-2BND (3)	82.0	128.0	AID1-4BMD (2)	76.0	-119.0
AGD1-2BTD (1)	71.0	98.0	AID1-6AMD (1)	-60.0	-179.0
AGD1-3AED (3)	73.0	83.0	AID1-6AND (1)	-56.0	179.0
AGD1-3AMD (1)	72.0	80.0	AID1-6BED (3)	-62.0	-173.0
AGD1-3AND (2)	76.0	96.0	AID1-6BGD (3)	67.0	-178.0
AGD1-3BED (2)	73.0	84.0	AID1-6BND (1)	-62.0	178.0
AGD1-3BGD (1)	72.0	94.0			
AGD1-3BGD (2)	79.0	89.0			

AID1-6BTD (1)	80.0	-176.0	AMD1-2BTD (2)	64.0	99.0
AID1-6BTD (2)	80.0	179.0	AMD1-3AID (2)	74.0	84.0
AKD1-2ATD (1)	68.0	86.0	AMD1-3ALD (2)	77.0	106.0
AKD1-2BED (1)	78.0	123.0	AMD1-3ALD (3)	76.0	103.0
AKD1-2BED (2)	72.0	115.0	AMD1-3AMD (1)	88.0	77.0
AKD1-2BID (1)	66.0	103.0	AMD1-3AMD (2)	106.0	73.0
AKD1-2BKD (2)	71.0	102.0	AMD1-3AMD (3)	82.0	70.0
AKD1-2BKD (3)	65.0	102.0	AMD1-3BGD (2)	75.0	77.0
AKD1-2BMD (1)	69.0	99.0	AMD1-3BGD (3)	78.0	94.0
AKD1-2BMD (2)	67.0	91.0	AMD1-3BID (1)	79.0	88.0
AKD1-2BND (1)	72.0	108.0	AMD1-3BID (2)	74.0	88.0
AKD1-2BND (2)	73.0	114.0	AMD1-3BID (3)	73.0	87.0
AKD1-2BND (3)	65.0	113.0	AMD1-3BND (2)	72.0	97.0
AKD1-2BTD (1)	69.0	93.0	AMD1-3BND (3)	71.0	98.0
AKD1-2BTD (2)	62.0	118.0	AMD1-4AED (1)	86.0	-87.0
AKD1-2BTD (3)	73.0	100.0	AMD1-4AED (2)	89.0	-90.0
AKD1-3AED (2)	76.0	78.0	AMD1-4AED (3)	88.0	-94.0
AKD1-3BND (1)	73.0	97.0	AMD1-4AGD (1)	93.0	-91.0
AKD1-3BND (2)	73.0	99.0	AMD1-4AGD (3)	93.0	-96.0
AKD1-3BND (3)	74.0	100.0	AMD1-4AKD (1)	93.0	-92.0
AKD1-4AED (1)	95.0	-95.0	AMD1-4AKD (2)	93.0	-90.0
AKD1-4AGD (1)	81.0	-135.0	AMD1-4AKD (3)	89.0	-88.0
AKD1-4AID (2)	92.0	-95.0	AMD1-4AND (1)	93.0	-87.0
AKD1-4AND (1)	95.0	-92.0	AMD1-4AND (3)	95.0	-88.0
AKD1-4BGD (1)	93.0	-104.0	AMD1-4BKD (1)	89.0	-91.0
AKD1-4BGD (2)	95.0	-101.0	AMD1-4BKD (2)	92.0	-88.0
AKD1-4BGD (3)	91.0	-95.0	AMD1-4BKD (3)	95.0	-93.0
AKD1-4BKD (2)	91.0	-100.0	AMD1-4BTD (1)	91.0	-92.0
AKD1-4BKD (3)	94.0	-97.0	AMD1-4BTD (2)	91.0	-97.0
AKD1-4BLD (2)	95.0	-101.0	AMD1-4BTD (3)	87.0	-96.0
AKD1-6ALD (1)	83.0	-102.0	AMD1-6AID (1)	80.0	-180.0
AKD1-6ALD (2)	74.0	-177.0	AMD1-6AID (2)	82.0	-172.0
AKD1-6ATD (2)	76.0	-173.0	AMD1-6AKD (2)	73.0	177.0
AKD1-6BKD (1)	79.0	-179.0	AMD1-6ALD (1)	79.0	-178.0
AKD1-6BKD (2)	72.0	-175.0	AMD1-6ALD (2)	75.0	-179.0
AKD1-6BMD (1)	72.0	179.0	AMD1-6ATD (1)	77.0	-177.0
ALD1-2AKD (1)	72.0	72.0	AMD1-6ATD (2)	82.0	-172.0
ALD1-2AKD (2)	74.0	81.0	AMD1-6BED (1)	76.0	-178.0
ALD1-2AKD (3)	72.0	82.0	AMD1-6BED (2)	76.0	-167.0
ALD1-2ALD (1)	80.0	75.0	AMD1-6BID (1)	76.0	-177.0
ALD1-2BED (1)	68.0	106.0	AMD1-6BLD (2)	80.0	-177.0
ALD1-2BGD (1)	67.0	93.0	AMD1-6BMD (1)	84.0	-173.0
ALD1-2BGD (2)	73.0	90.0	AMD1-6BMD (2)	81.0	179.0
ALD1-2BGD (3)	71.0	95.0	AMD1-6BTD (1)	75.0	-174.0
ALD1-2BLD (2)	66.0	98.0	AND1-2BED (1)	74.0	120.0
ALD1-2BLD (3)	68.0	93.0	AND1-2BED (2)	69.0	108.0
ALD1-2BMD (1)	70.0	91.0	AND1-2BID (1)	70.0	120.0
ALD1-3AID (1)	75.0	78.0	AND1-2BID (3)	70.0	111.0
ALD1-3AID (2)	76.0	84.0	AND1-2BMD (1)	70.0	100.0
ALD1-3ALD (1)	111.0	85.0	AND1-2BMD (3)	67.0	90.0
ALD1-3AMD (1)	76.0	81.0	AND1-2BTD (1)	65.0	94.0
ALD1-3BTD (1)	64.0	72.0	AND1-2BTD (2)	72.0	99.0
ALD1-4AED (2)	77.0	-149.0	AND1-2BTD (3)	71.0	100.0
ALD1-4ALD (1)	-101.0	96.0	AND1-3AND (2)	80.0	73.0
ALD1-4ALD (2)	-101.0	95.0	AND1-3BED (2)	71.0	81.0
ALD1-4BID (3)	90.0	-100.0	AND1-3BGD (2)	73.0	97.0
ALD1-4BLD (1)	98.0	-99.0	AND1-3BGD (3)	69.0	92.0
ALD1-6AED (2)	80.0	-174.0	AND1-3BTD (1)	75.0	84.0
ALD1-6AGD (2)	83.0	-174.0	AND1-3BTD (3)	74.0	89.0
ALD1-6AMD (1)	75.0	-178.0	AND1-4AKD (3)	95.0	-96.0
ALD1-6AMD (4)	81.0	-175.0	AND1-4ALD (3)	94.0	-100.0
ALD1-6BID (1)	77.0	178.0	AND1-4ATD (1)	95.0	-99.0
ALD1-6BID (4)	75.0	-180.0	AND1-4ATD (2)	94.0	-97.0
ALD1-6BTD (1)	77.0	177.0	AND1-4ATD (3)	96.0	-101.0
ALD1-6BTD (2)	71.0	-174.0	AND1-4BND (1)	86.0	-93.0
ALD1-6BTD (3)	72.0	-178.0	AND1-4BND (2)	94.0	-95.0
AMD1-2AMD (1)	79.0	72.0	AND1-4BND (3)	91.0	-98.0
AMD1-2AMD (2)	73.0	68.0	AND1-6AKD (1)	77.0	179.0
AMD1-2AND (1)	70.0	77.0	AND1-6AKD (2)	76.0	178.0
AMD1-2AND (2)	66.0	80.0	AND1-6BLD (1)	78.0	-177.0
AMD1-2AND (3)	69.0	80.0	ATD1-2AED (1)	75.0	81.0
AMD1-2BKD (1)	70.0	113.0	ATD1-2AED (2)	70.0	79.0
AMD1-2BTD (1)	73.0	105.0	ATD1-2AGD (2)	74.0	82.0

ATD1-2AGD (3)	67.0	78.0	BED1-6BKD (3)	-177.0	178.0
ATD1-2AID (1)	69.0	75.0	BED1-6BLD (3)	-170.0	178.0
ATD1-2AID (2)	69.0	80.0	BED1-6BTD (1)	-172.0	179.0
ATD1-2AID (3)	67.0	81.0	BED1-6BTD (2)	-172.0	178.0
ATD1-2AKD (1)	66.0	86.0	BGD1-2ATD (1)	-77.0	108.0
ATD1-2AKD (2)	70.0	83.0	BGD1-2ATD (2)	-76.0	116.0
ATD1-2AKD (3)	69.0	76.0	BGD1-2BGD (1)	115.0	-78.0
ATD1-2ALD (2)	66.0	77.0	BGD1-2BGD (2)	113.0	-77.0
ATD1-2AND (1)	70.0	79.0	BGD1-2BGD (3)	114.0	-78.0
ATD1-2AND (2)	63.0	80.0	BGD1-2BKD (1)	-71.0	151.0
ATD1-2AND (3)	68.0	83.0	BGD1-2BKD (2)	-69.0	157.0
ATD1-2ATD (1)	82.0	69.0	BGD1-2BLD (1)	-73.0	112.0
ATD1-2ATD (2)	79.0	69.0	BGD1-2BLD (2)	-71.0	115.0
ATD1-2BED (1)	70.0	126.0	BGD1-2BLD (3)	-71.0	112.0
ATD1-2BED (2)	74.0	114.0	BGD1-2BMD (1)	-71.0	110.0
ATD1-2BKD (1)	62.0	110.0	BGD1-2BMD (2)	-78.0	107.0
ATD1-2BKD (2)	74.0	117.0	BGD1-2BMD (3)	-73.0	109.0
ATD1-2BMD (1)	74.0	99.0	BGD1-2BND (1)	-71.0	155.0
ATD1-2BMD (2)	66.0	96.0	BGD1-2BTD (1)	-75.0	116.0
ATD1-2BTD (1)	77.0	109.0	BGD1-2BTD (2)	-73.0	111.0
ATD1-2BTD (2)	72.0	103.0	BGD1-3BMD (2)	-69.0	151.0
ATD1-2BTD (3)	71.0	106.0	BID1-2AED (1)	-69.0	154.0
ATD1-3AKD (1)	77.0	96.0	BID1-2AED (2)	-66.0	149.0
ATD1-3AKD (2)	78.0	96.0	BID1-2AID (1)	-69.0	150.0
ATD1-3AKD (3)	78.0	98.0	BID1-2AID (2)	-67.0	159.0
ATD1-3BED (2)	70.0	91.0	BID1-2AID (3)	-59.0	154.0
ATD1-3BID (1)	73.0	88.0	BID1-2AND (1)	-63.0	163.0
ATD1-3BID (3)	72.0	84.0	BID1-2AND (2)	-68.0	155.0
ATD1-4AID (1)	91.0	-93.0	BID1-2ATD (1)	-76.0	122.0
ATD1-4AKD (1)	87.0	-94.0	BID1-2BID (2)	149.0	-69.0
ATD1-4AKD (2)	93.0	-87.0	BID1-2BND (1)	-66.0	155.0
ATD1-4AKD (3)	97.0	-92.0	BID1-2BND (2)	-66.0	160.0
ATD1-4BID (3)	91.0	-96.0	BID1-3BGD (1)	-68.0	121.0
ATD1-6AID (2)	78.0	-173.0	BID1-3BMD (1)	-64.0	160.0
ATD1-6AND (1)	74.0	-180.0	BID1-4AGD (2)	-63.0	-79.0
ATD1-6BLD (1)	78.0	-174.0	BID1-4AMD (1)	-67.0	-94.0
ATD1-6BMD (2)	75.0	-177.0	BID1-4AND (1)	-67.0	-78.0
ATD1-6BMD (3)	78.0	174.0	BID1-4AND (2)	-66.0	-88.0
BED1-2AGD (1)	-70.0	115.0	BID1-4BKD (1)	-69.0	-86.0
BED1-2AGD (2)	-77.0	97.0	BID1-4BLD (1)	-66.0	-100.0
BED1-2AID (1)	-60.0	154.0	BID1-4BMD (1)	-65.0	-96.0
BED1-2AID (2)	-65.0	154.0	BID1-4BTD (1)	-69.0	-99.0
BED1-2AKD (1)	-66.0	156.0	BID1-6AMD (1)	-173.0	175.0
BED1-2AKD (2)	-59.0	152.0	BID1-6ATD (1)	-171.0	-174.0
BED1-2ALD (1)	-71.0	105.0	BID1-6ATD (2)	179.0	178.0
BED1-2ALD (2)	-72.0	136.0	BID1-6BGD (1)	-172.0	179.0
BED1-2AMD (2)	-69.0	103.0	BID1-6BGD (2)	-175.0	175.0
BED1-2AND (1)	-66.0	159.0	BID1-6BGD (3)	-179.0	177.0
BED1-2AND (2)	-65.0	151.0	BID1-6BLD (2)	-171.0	179.0
BED1-2ATD (1)	-73.0	125.0	BID1-6BLD (3)	-177.0	179.0
BED1-2BGD (1)	-64.0	110.0	BID1-6BMD (2)	-174.0	179.0
BED1-2BGD (2)	-67.0	112.0	BKD1-2AKD (1)	-69.0	149.0
BED1-2BLD (1)	-75.0	110.0	BKD1-2AND (1)	-77.0	157.0
BED1-2BLD (2)	-76.0	112.0	BKD1-2BED (2)	-67.0	158.0
BED1-2BMD (1)	-73.0	108.0	BKD1-2BID (1)	-73.0	150.0
BED1-2BMD (2)	-73.0	106.0	BKD1-2BKD (2)	162.0	-67.0
BED1-2BND (1)	-69.0	154.0	BKD1-2BMD (1)	-76.0	112.0
BED1-2BND (2)	-64.0	154.0	BKD1-2BTD (1)	-72.0	114.0
BED1-2BTD (1)	-74.0	110.0	BKD1-2BTD (2)	-78.0	111.0
BED1-2BTD (2)	-74.0	112.0	BKD1-2BTD (3)	-77.0	107.0
BED1-3AGD (1)	-82.0	105.0	BKD1-3ALD (3)	-73.0	146.0
BED1-3AGD (2)	-78.0	112.0	BKD1-3BID (1)	-72.0	140.0
BED1-3ALD (1)	-68.0	141.0	BKD1-4ALD (1)	-70.0	-101.0
BED1-3ALD (2)	-69.0	142.0	BKD1-4BGD (2)	-63.0	-98.0
BED1-4AED (1)	-68.0	-109.0	BKD1-6ATD (2)	68.0	-177.0
BED1-4BED (1)	-84.0	-70.0	BKD1-6BGD (2)	68.0	-177.0
BED1-4BGD (1)	-65.0	-98.0	BLD1-2AGD (1)	-80.0	99.0
BED1-4BGD (2)	-67.0	-98.0	BLD1-2AGD (2)	-83.0	108.0
BED1-4BND (1)	-73.0	-88.0	BLD1-2AKD (1)	-71.0	151.0
BED1-4BND (2)	-64.0	-85.0	BLD1-2ATD (1)	-75.0	119.0
BED1-4BTD (1)	-68.0	-96.0	BLD1-2ATD (2)	-85.0	113.0
BED1-6AND (1)	-175.0	173.0	BLD1-2BED (1)	-69.0	156.0
BED1-6BED (2)	178.0	-180.0	BLD1-2BED (2)	-74.0	154.0

BLD1-2BID (1)	-75.0	154.0	BND1-2BND (1)	160.0	-67.0
BLD1-2BID (2)	-72.0	153.0	BND1-2BND (2)	154.0	-67.0
BLD1-2BID (3)	-70.0	150.0	BND1-3AID (1)	-71.0	135.0
BLD1-2BMD (1)	-77.0	113.0	BND1-3ATD (1)	-72.0	138.0
BLD1-2BTD (1)	-81.0	114.0	BND1-3BID (1)	-69.0	140.0
BLD1-3AED (1)	-72.0	107.0	BND1-3BKD (1)	-69.0	140.0
BLD1-3AGD (1)	-71.0	107.0	BND1-3BLD (2)	-64.0	143.0
BLD1-3AGD (2)	-78.0	108.0	BND1-3BND (1)	115.0	-72.0
BLD1-3AKD (1)	-68.0	151.0	BND1-4AGD (1)	-67.0	-97.0
BLD1-3AMD (1)	-71.0	146.0	BND1-4AMD (1)	-67.0	-94.0
BLD1-3BGD (1)	-72.0	114.0	BND1-4AND (1)	-68.0	-84.0
BLD1-3BID (1)	-66.0	132.0	BND1-4AND (2)	-70.0	-79.0
BLD1-3BID (2)	-71.0	142.0	BND1-4BED (1)	-70.0	-77.0
BLD1-3BID (3)	-66.0	138.0	BND1-4BID (1)	-65.0	-81.0
BLD1-3BKD (1)	-70.0	137.0	BND1-6AGD (3)	57.0	-172.0
BLD1-3BKD (2)	-72.0	146.0	BND1-6AKD (2)	-157.0	178.0
BLD1-3BKD (3)	-71.0	139.0	BND1-6AKD (3)	-152.0	179.0
BLD1-4AID (1)	-64.0	-81.0	BND1-6ATD (4)	63.0	-167.0
BLD1-4ALD (2)	-71.0	-99.0	BND1-6BGD (1)	61.0	-172.0
BLD1-4ATD (1)	-66.0	-92.0	BND1-6BID (1)	-159.0	-178.0
BLD1-4BED (1)	-67.0	-81.0	BND1-6BMD (1)	62.0	-167.0
BLD1-4BGD (1)	-71.0	-96.0	BND1-6BMD (4)	66.0	-176.0
BLD1-6AED (2)	-74.0	-179.0	BND1-6BTD (1)	67.0	-174.0
BLD1-6AED (3)	66.0	-179.0	BTD1-2AED (1)	-74.0	150.0
BLD1-6AGD (3)	64.0	-175.0	BTD1-2AED (2)	-70.0	157.0
BLD1-6BLD (1)	-171.0	65.0	BTD1-2AGD (1)	-71.0	108.0
BLD1-6BTD (2)	64.0	178.0	BTD1-2AGD (2)	-71.0	120.0
BLD1-6BTD (3)	71.0	-166.0	BTD1-2AGD (3)	-71.0	125.0
BMD1-2AID (1)	-67.0	147.0	BTD1-2AKD (1)	-66.0	158.0
BMD1-2AID (2)	-65.0	155.0	BTD1-2AKD (2)	-60.0	151.0
BMD1-2AKD (1)	-62.0	157.0	BTD1-2ALD (1)	-65.0	114.0
BMD1-2ATD (1)	-74.0	120.0	BTD1-2ALD (2)	-72.0	126.0
BMD1-2ATD (2)	-66.0	112.0	BTD1-2AMD (1)	-70.0	124.0
BMD1-2BKD (1)	-67.0	152.0	BTD1-2AMD (2)	-74.0	112.0
BMD1-2BKD (2)	-63.0	159.0	BTD1-2ATD (1)	-68.0	129.0
BND1-2AKD (1)	-64.0	159.0	BTD1-2ATD (2)	-74.0	120.0
BND1-2AKD (2)	-78.0	158.0	BTD1-2BGD (1)	-70.0	112.0
BND1-2AKD (3)	-73.0	159.0	BTD1-2BGD (2)	-74.0	111.0
BND1-2AND (1)	-73.0	156.0	BTD1-2BKD (1)	-69.0	158.0
BND1-2AND (2)	-70.0	150.0	BTD1-2BKD (2)	-59.0	160.0
BND1-2ATD (1)	-75.0	132.0	BTD1-2BLD (1)	-74.0	110.0
BND1-2ATD (2)	-81.0	99.0	BTD1-2BLD (2)	-78.0	113.0
BND1-2BID (1)	-74.0	158.0	BTD1-2BND (1)	-67.0	149.0
BND1-2BID (2)	-70.0	154.0	BTD1-2BND (2)	-57.0	152.0
BND1-2BLD (1)	-72.0	114.0	BTD1-2BTD (1)	110.0	-70.0
BND1-2BLD (2)	-77.0	113.0			
BND1-2BMD (2)	-76.0	109.0			

8.2 Mapas de Distribuição Energética por MD dos Dissacarídeos Estudados

Nesta seção, os mapas de energia ao longo do espectro ϕ e ψ para os dissacarídeos analisados por MD podem ser observados. Nos dissacarídeos onde a análise por refinamento (DM) foi efetuada, encontram-se círculos cinza apontando a configuração de maior predominância ao longo do processo de simulação.

