

Simulação Computacional de Líquidos

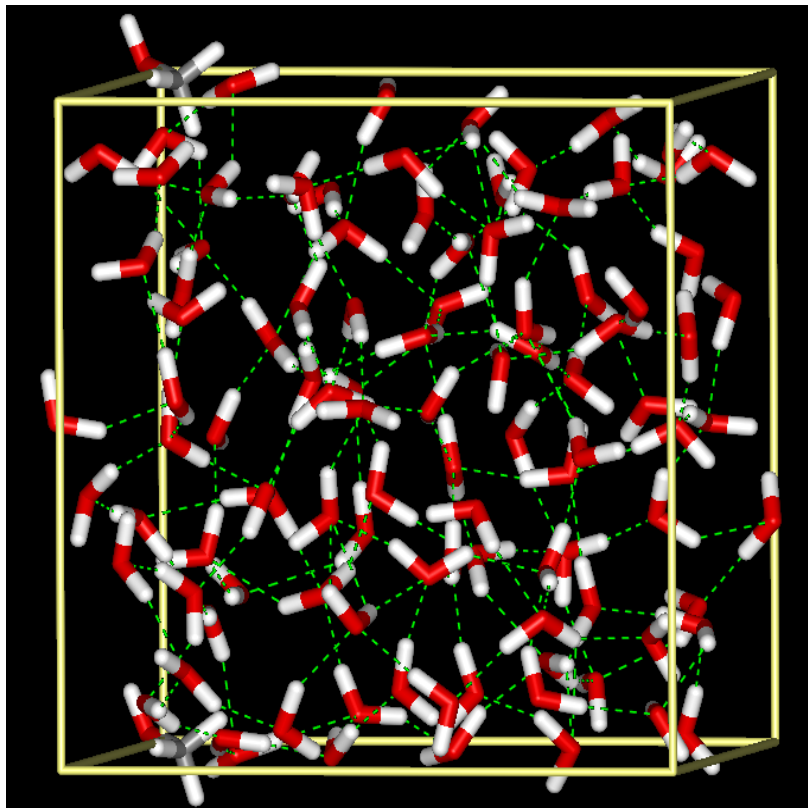
Profa. Kaline Coutinho

kaline@if.usp.br

Instituto de Física da USP

Aula 18: Apresentação do programa GROMACS:

- Arquivos de entrada (input);
- Arquivos de saída (output);
- Análise de propriedades.



GROMACS

Groningen Machine for Chemical Simulations



USER MANUAL

5.1, 2016, 2018, and 2019 release series

1. Aplicabilidade

Realiza simulações de sistemas moleculares com o método Dinâmica Molecular utilizando modelo de moléculas flexíveis.

2. Arquivos de entrada:

Para executar o Gromacs com o comando **mdrun** é necessário ter um arquivo binário com terminação tpr (***.tpr**). Esse arquivo ***.tpr** só pode ser gerado pelo comando **grompp** que necessita de 3 arquivos de entrada:

***.mdp** (contem as informações da simulação)

***.gro** (contem numeração, coordenadas cartesianas e velocidades dos átomos do sistema)

***.top** (chamando os arquivos ***.itp**)

***.itp** (contem informações da topologia das moléculas e campo de força)

Os arquivos ***.gro** e ***.itp** são arquivos texto não formatados que podem ser gerados de várias formas. Uma dessas formas é através do comando **pdb2gmx** que usa um arquivo no formato pdb e as informações do campo de força existentes no GROMACS, ou através do **LigParGen** (site que gera arquivos com parametrização OPLS).

Neste tutorial vamos usar o campo de força **gromos 53a6** que se encontra no diretório `gromacs/share/gromacs/top/gromos53a6.ff` [J. Comp. Chem. 25 (2004) 1656] e o site LigParGen.

Como gerar o arquivo PDB

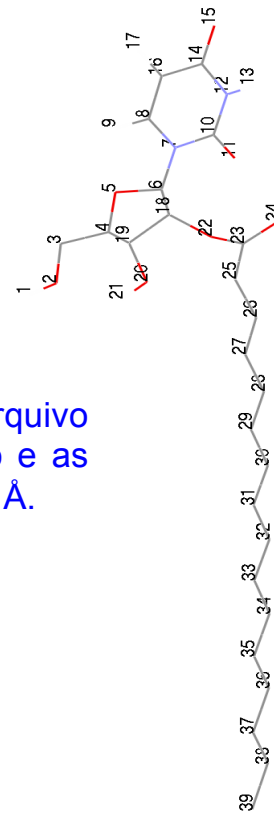
Se já tiver uma geometria otimizada com cálculo quântico (mol-opt.xyz) pode usar o programa babel (download livre) para gerar um arquivo no formato PDB.

```
> babel -ixyz mol-opt.xyz -opdb mol-opt.pdb
```

Se não, vários programas gráficos podem gerar a molécula já no formato PDB

Exemplo de arquivo PDB: molécula Uradinapalmitoil (UP2)

```
TITLE      Protein
REMARK    THIS IS A SIMULATION BOX
CRYST1   40.000    40.000    40.000    90.00    90.00    90.00 P 1
MODEL     1
ATOM      1  H5* UP2    1      8.937    1.721    19.728    1.00    0.00
ATOM      2  O5* UP2    1      8.057    1.314    19.995    1.00    0.00
ATOM      3  C5* UP2    1      7.699    1.255    21.392    1.00    0.00
ATOM      4  C4* UP2    1      6.619    0.207    21.669    1.00    0.00
ATOM      5  O4* UP2    1      6.239    0.093    23.047    1.00    0.00
ATOM      6  C1* UP2    1      5.096   -0.763    22.947    1.00    0.00
ATOM      7  N1  UP2    1      4.342   -0.799    24.230    1.00    0.00
ATOM      8  C6  UP2    1      4.054    0.378    24.934    1.00    0.00
ATOM      9  H6  UP2    1      4.417    1.333    24.561    1.00    0.00
ATOM     10  C2  UP2    1      3.940   -2.032    24.772    1.00    0.00
ATOM     11  O2  UP2    1      4.172   -3.076    24.161    1.00    0.00
ATOM     12  N3  UP2    1      3.255   -2.072    25.994    1.00    0.00
ATOM     13  H3  UP2    1      2.987   -2.951    26.381    1.00    0.00
ATOM     14  C4  UP2    1      2.968   -0.876    26.687    1.00    0.00
ATOM     15  O4  UP2    1      2.349   -0.903    27.746    1.00    0.00
ATOM     16  C5  UP2    1      3.371    0.343    26.148    1.00    0.00
ATOM     17  H5  UP2    1      3.156    1.266    26.690    1.00    0.00
ATOM     18  C2* UP2    1      4.277   -0.229    21.774    1.00    0.00
ATOM     19  C3* UP2    1      5.312    0.518    20.948    1.00    0.00
ATOM     20  O3* UP2    1      5.280    0.012    19.596    1.00    0.00
ATOM     21  H3* UP2    1      6.083    0.366    19.099    1.00    0.00
ATOM     22  O2* UP2    1      3.713   -1.293    20.962    1.00    0.00
ATOM     23  C21 UP2    1      2.476   -1.316    20.445    1.00    0.00
ATOM     24  O22 UP2    1      1.584   -1.901    21.055    1.00    0.00
ATOM     25  C22 UP2    1      2.256   -0.626    19.148    1.00    0.00
ATOM     26  C23 UP2    1      2.463   -1.530    17.929    1.00    0.00
ATOM     27  C24 UP2    1      2.249   -0.721    16.643    1.00    0.00
ATOM     28  C25 UP2    1      2.489   -1.571    15.394    1.00    0.00
ATOM     29  C26 UP2    1      2.308   -0.714    14.140    1.00    0.00
ATOM     30  C27 UP2    1      2.576   -1.521    12.874    1.00    0.00
ATOM     31  C28 UP2    1      2.415   -0.627    11.639    1.00    0.00
ATOM     32  C29 UP2    1      2.691   -1.398    10.348    1.00    0.00
ATOM     33  C210 UP2    1      2.530   -0.479     9.139    1.00    0.00
ATOM     34  C211 UP2    1      2.818   -1.233     7.836    1.00    0.00
ATOM     35  C212 UP2    1      2.665   -0.309     6.640    1.00    0.00
ATOM     36  C213 UP2    1      2.955   -1.051     5.332    1.00    0.00
ATOM     37  C214 UP2    1      2.803   -0.113     4.131    1.00    0.00
ATOM     38  C215 UP2    1      3.087   -0.849     2.817    1.00    0.00
ATOM     39  C216 UP2    1      2.941    0.083     1.622    1.00    0.00
TER
ENDMDL
```



ATENÇÃO: o arquivo
*.pdb é formatado e as
distâncias são em Å.

Formato do arquivo PDB dentro do bloco MODEL ... ENDMDL:

Record Format

COLUMNS	DATA TYPE	FIELD	DEFINITION
1 - 6	Record name	"ATOM "	
7 - 11	Integer	serial	Atom serial number.
13 - 16	Atom	name	Atom name.
17	Character	altLoc	Alternate location indicator.
18 - 20	Residue name	resName	Residue name.
22	Character	chainID	Chain identifier.
23 - 26	Integer	resSeq	Residue sequence number.
27	AChar	iCode	Code for insertion of residues.
31 - 38	Real(8.3)	x	Orthogonal coordinates for X in Angstroms.
39 - 46	Real(8.3)	y	Orthogonal coordinates for Y in Angstroms.
47 - 54	Real(8.3)	z	Orthogonal coordinates for Z in Angstroms.
55 - 60	Real(6.2)	occupancy	Occupancy.
61 - 66	Real(6.2)	tempFactor	Temperature factor.
77 - 78	LString(2)	element	Element symbol, right-justified.
79 - 80	LString(2)	charge	Charge on the atom.

```

      1      2      3      4      5      6      7      8
1234567890123456789012345678901234567890123456789012345678901234567890
MODEL
      1
ATOM      1  N  ALA  A   1      11.104   6.134  -6.504   1.00   0.00      N
ATOM      2  CA  ALA  A   1      11.639   6.071  -5.147   1.00   0.00      C
...
...
...
ATOM    293 1HG  GLU  A  18      -14.861  -4.847   0.361   1.00   0.00      H
ATOM    294 2HG  GLU  A  18      -13.518  -3.769   0.084   1.00   0.00      H
TER      295      GLU  A  18
ENDMDL
```

Como gerar o arquivo *.gro e *.top a partir do PDB

Usando o programa GROMACS e suas ferramentas: copie para o seu diretório de trabalho o diretório do campo de força.

Exemplo: gromacs/share/gromacs/top/gromos53a6.ff

Neste diretório existem alguns arquivos importantes que precisaremos para definir a topologia da molécula que vamos simular:

atomtypes.atp: neste arquivo estão definidos os tipos dos átomos que estão parametrizados nos campos de força. Se existir algum átomo na sua molécula que não esteja definido neste arquivo, então é necessário editá-lo e também o arquivo **ffnonbonded.itp** para colocar os valores de C6 e C12 dos átomos novos no bloco [atomtypes] e das combinações com outros átomos no bloco [nonbond_params].

aminoacids.atp: neste arquivo você precisa editar e construir a topologia da sua molécula que deve ter um rótulo de 3 letras, na 4ª coluna do PDB (exemplo: UP2). Este arquivo já tem a topologia dos aminiácidos e ácidos nucleicos e alguma terminações de aminoácidos. Ele é composto de 6 blocos para cada molécula [atoms], [bonds], [exclusions], [angles], [impropers] e [dihedrals].

Como gerar o arquivo *.gro e *.top a partir do PDB

Usando o site LigParGen: Usar o arquivo mol-opt.pdb no site <http://zarbi.chem.yale.edu/ligpargen/> para gerar os arquivos com campo de força OPLS.

Step 1: Input structure

SMILES

Enter SMILES Code

OR upload MOL / PDB file (Structures MUST include all hydrogens)

Escolher Arquivo

Step 2: Options

Molecule Optimization Iterations

Select charge model:

1.14*CM1A-LBCC (Neutral molecules)

1.14*CM1A¹ (Neutral or Charged molecules)

Molecule charge

¹ For charged molecules, CM1A charges are NOT scaled by a factor 1.14

LigParGen Draw Molecule Contact

Parameter and topology files successfully generated!!!

SAFARI USERS: Downloaded files will have the wrong name (results_lpg.py) and must be renamed appropriately

Downloads

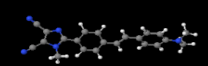
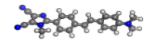
OpenMM

CHARMM/NAMD

GROMACS

PQR

Ligand submitted



Visualização do site LigParGen com as opções de submissão (esquerda). Clicar no botão Submit Molecule; e visualização do site após submissão (direita). Clicar nos botões GRO e TOP do GROMACS para fazer download destes dois arquivos gerados. Renomear estes arquivos baixados do site LigParGen para: mol.gro e mol.itp.

Exemplo de arquivo *.top

```
; Include forcefield parameters  
#include "oplsaa.ff/forcefield.itp"
```

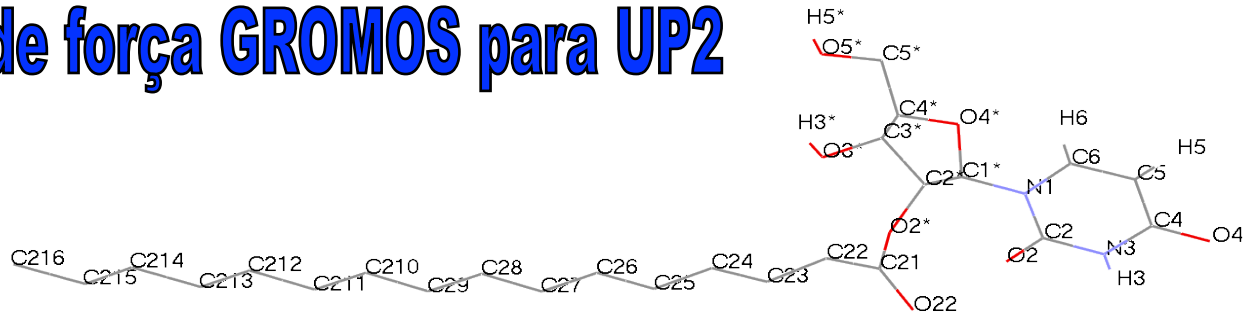
```
; Include water topology  
#include "water.itp"
```

```
; Include octane topology  
#include "mol.itp"
```

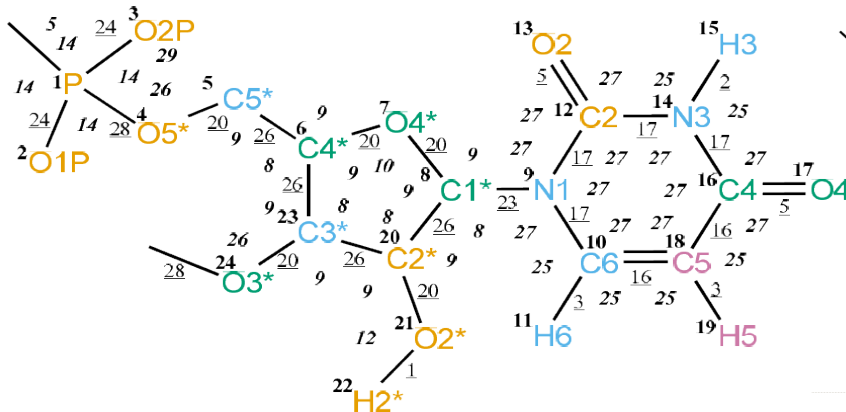
```
[ system ]  
; Name  
molecule in water
```

```
[ molecules ]  
; Compound      #mols  
MOL              1  
SOL              1000
```

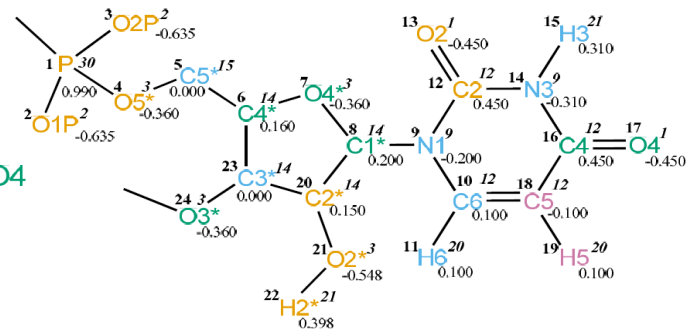
Campo de força GROMOS para UP2



The GROMOS Software for (Bio)Molecular Simulation, vol. 3, pp.384



Bonded parameter for URA
 bond 24 (gb_24) entre átomos 1 e 2
 angle 14 (ga_14) entre átomos 2 1 4



Non-bonded parameter for URA
 charge 0.990 no átomo 1
 P tipo 30

Incluir o [UP2] no arquivo gromos53a6.ff/aminoacids.rtp

```
[ UP2 ]
[ atoms ]
; a type charge cgroup GROMOS pp.3-32 and pp.3-384
H5* H 0.36000 0
O5* OA -0.36000 0
C5* CH2 0.00000 1
C4* CH1 0.16000 2
O4* OA -0.36000 2
C1* CH1 0.20000 2
N1 NR -0.20000 3
C6 C 0.10000 3
H6 HC 0.10000 3
C2 C 0.45000 4
O2 O -0.45000 4
N3 NR -0.31000 5
H3 H 0.31000 5
C4 C 0.45000 6
O4 O -0.45000 6
C5 C -0.10000 7
H5 HC 0.10000 7
C2* CH1 0.15000 8
C3* CH1 0.16000 9
O3* OA -0.54800 8
H3* H 0.39800 8
; a type charge cgroup GROMOS pp.3-32 and pp.3-471
O2* OA -0.36000 9
C21 CH0 0.58000 9
O22 O -0.38000 9
C22 CH2 0.00000 10
C23 CH2 0.00000 10
C24 CH2 0.00000 11
C25 CH2 0.00000 11
C26 CH2 0.00000 12
C27 CH2 0.00000 12
C28 CH2 0.00000 13
C29 CH2 0.00000 13
C210 CH2 0.00000 14
C211 CH2 0.00000 14
C212 CH2 0.00000 15
C213 CH2 0.00000 15
C214 CH2 0.00000 16
C215 CH2 0.00000 16
C216 CH3 0.00000 17
```

→ Rótulos dos átomos no
arquivo PDF

→ Rótulos dos átomos no
campo de força
listados no arquivo
gromos53a6.ff/
atomtypes.atp

```
[ bonds ]
; ai aj gromos type
H5* O5* gb_1
O5* C5* gb_20
C5* C4* gb_26
C4* O4* gb_20
C4* C3* gb_26
O4* C1* gb_20
C1* N1 gb_23
C1* C2* gb_26
N1 C6 gb_17
N1 C2 gb_17
C6 H6 gb_3
C6 C5 gb_16
C2 O2 gb_5
C2 N3 gb_17
N3 H3 gb_2
N3 C4 gb_17
C4 O4 gb_5
C4 C5 gb_16
C5 H5 gb_3
C2* O2* gb_20
C2* C3* gb_26
O3* H3* gb_1
C3* O3* gb_20
; ai aj gromos type
O2* C21 gb_10
C21 O22 gb_5
C21 C22 gb_23
C22 C23 gb_27
C23 C24 gb_27
C24 C25 gb_27
C25 C26 gb_27
C26 C27 gb_27
C27 C28 gb_27
C28 C29 gb_27
C29 C210 gb_27
C210 C211 gb_27
C211 C212 gb_27
C212 C213 gb_27
C213 C214 gb_27
C214 C215 gb_27
C215 C216 gb_27
```

```
[ exclusions ]
; ai aj
C1* H6
C1* O2
C1* N3
C1* C5
N1 H3
N1 C4
N1 H5
C6 O2
C6 N3
C6 O4
H6 C2
H6 C4
H6 H5
C2 O4
C2 C5
O2 H3
O2 C4
N3 H5
H3 O4
H3 C5
O4 H5
H5 -O3*
O2* O3*
H3* O2*
```

→ Rótulos dos
parâmetros de
ligações no campo de
força listados no
arquivo gromos53a6.ff/
ffbonded.itp

```

[ angles ]
; ai aj ak gromos type
H5* O5* C5* ga_26
O5* C5* C4* ga_9
C5* C4* O4* ga_9
C5* C4* C3* ga_8
O4* C4* C3* ga_9
C4* O4* C1* ga_10
O4* C1* N1 ga_9
O4* C1* C2* ga_9
N1 C1* C2* ga_8
C1* N1 C6 ga_27
C1* N1 C2 ga_27
C6 N1 C2 ga_27
N1 C6 H6 ga_25
N1 C6 C5 ga_27
H6 C6 C5 ga_25
N1 C2 O2 ga_27
N1 C2 N3 ga_27
O2 C2 N3 ga_27
C2 N3 H3 ga_25
C2 N3 C4 ga_27
H3 N3 C4 ga_25
N3 C4 O4 ga_27
N3 C4 C5 ga_27
O4 C4 C5 ga_27
C6 C5 C4 ga_27
C6 C5 H5 ga_25
C4 C5 H5 ga_25
C1* C2* O2* ga_9
C1* C2* C3* ga_8
O2* C2* C3* ga_9
C3* O3* H3* ga_12
C4* C3* C2* ga_8
C4* C3* O3* ga_9
C2* C3* O3* ga_9
; C3* O3* +P ga_26
; ai aj ak gromos type
; C4* C3* O3* ga_13
O3* C3* C2* ga_13
C2* O2* C21 ga_22
O2* C21 O22 ga_31
O2* C21 C22 ga_16
O22 C21 C22 ga_35
C21 C22 C23 ga_15
C22 C23 C24 ga_15

```

```

[ impropers ]
; ai aj ak al gromos type
N1 C6 C2 C1* gi_1
N1 C6 C5 C4 gi_1
N1 C2 N3 C4 gi_1
C6 N1 C2 N3 gi_1
C6 N1 C5 H6 gi_1
C2 N1 C6 C5 gi_1
C2 N3 C4 C5 gi_1
O2 N1 N3 C2 gi_1
N3 C4 C5 C6 gi_1
H3 C2 C4 N3 gi_1
O4 N3 C5 C4 gi_1
C5 C6 C4 H5 gi_1
C2* O4* N1 C1* gi_2
C2* O2* C3* C1* gi_2
C3* C5* O4* C4* gi_2
C3* C2* O3* C4* gi_2
; ai aj ak al gromos type
C21 O2* C22 O22 gi_1

```

```

[ dihedrals ]
; ai aj ak al gromos type
H5* O5* C5* C4* gd_7
O5* C5* C4* O4* gd_8
O5* C5* C4* O4* gd_25
O5* C5* C4* C3* gd_17
O5* C5* C4* C3* gd_34
C3* C4* O4* C1* gd_29
C5* C4* C3* C2* gd_34
C5* C4* C3* O3* gd_17
O4* C4* C3* C2* gd_17
O4* C4* C3* O3* gd_18
C4* O4* C1* C2* gd_29
O4* C1* C2* O2* gd_18
O4* C1* C2* C3* gd_17
O4* C1* C2* C3* gd_34
N1 C1* C2* O2* gd_17
C1* C2* O2* C21 gd_23
C1* C2* C3* C4* gd_34
C1* C2* C3* O3* gd_17
O2* C2* C3* C4* gd_17
O2* C2* C3* O3* gd_18
C4* C3* O3* H3* gd_29
; ai aj ak al gromos type
C2* O2* C21 C22 gd_13
O2* C21 C22 C23 gd_40
C21 C22 C23 C24 gd_34
C22 C23 C24 C25 gd_34
C23 C24 C25 C26 gd_34
C24 C25 C26 C27 gd_34
C25 C26 C27 C28 gd_34
C26 C27 C28 C29 gd_34
C27 C28 C29 C210 gd_34
C28 C29 C210 C211 gd_34
C29 C210 C211 C212 gd_34
C210 C211 C212 C213 gd_34
C211 C212 C213 C214 gd_34
C212 C213 C214 C215 gd_34
C213 C214 C215 C216 gd_34

```

Incluído no gromos53a6.ff/ffbonded.itp

```
;ANGULOS ADICIONAIS PARA UP
#define gd_90      8.7500      1.0      1
; -CHn-NT- 0.9
;
#define gd_91      5.0300      1.0      2
; -CHn-NT- 0.9
```

min.mdp

```
integrator          = steep
tinit              = 0.0
dt                 = 0.001
nsteps             = 25000
emtol              = 1
nstcomm            = 5
comm-grps          = UP2
nstxout            = 10
nstvout            = 10
nstfout            = 0
nstlog             = 10
nstenergy          = 10
nstxtcout          = 10
xtc_precision      = 10
xtc-grps           =
energygrps         = UP2
nstlist            = 5
ns_type            = grid
pbc                = xyz
rlist              = 1.4
coulombtype        = reaction-field
rcoulomb           = 1.4
epsilon_rf         = 1.5
vdw_type           = cut-off
rvdw               = 1.4
DispCorr           = No
constraints         = none
```

nvt.mdp

```
integrator          = md
tinit              = 0.0
dt                 = 0.001
nsteps             = 10000000
emtol              = 1
comm-mode          = Angular
nstcomm            = 5
comm-grps          = UP2
nstxout            = 1000
nstvout            = 1000
nstfout            = 0
nstlog             = 1000
nstenergy          = 1000
nstxtcout          = 1000
xtc_precision      = 1000
xtc-grps           =
energygrps         = UP2
nstlist            = 5
ns_type            = grid
pbc                = xyz
rlist              = 1.4
coulombtype        = reaction-field
rcoulomb           = 1.4
epsilon_rf         = 1.5
vdw_type           = cut-off
rvdw               = 1.4
DispCorr           = No
tcoupl             = v-rescale
tc-grps            = UP2
tau_t              = 0.1
ref_t              = 300
constraints         = none
```

O comando `comm-mode = Angular`, retira a rotação do centro de massa para evitar que todo o movimento cinético seja transferido para a rotação do centro de massa.

Esse comando gera um *warning* e deve ser usado apenas para a dinâmica de uma molécula em vácuo com a utilização da opção de `-maxwarn 1` (veja na linha de comando do `grompp`)

Minimização e simulação em vácuo

3. Execução

```
> mkdir simulation  
> cp -r /usr/local/gromacs/share/gromcas/top/gromos53a6.ff /simulation  
> ls; gromos53a6.ff min.mdp nvt.mdp up2.pdb
```

Gerar o up2.top e up2.gro:

```
> gmx pdb2gmx -f up2.pdb -o up2.gro -p up2.top -ff gromos53a6 -water none
```

Centralizar a molécula no meio da caixa de simulação de 4x4x4nm:

```
> gmx editconf -f up2.gro -o up2.gro -box 4 4 4
```

Gerar o arquivo binário up2_vac_min.tpr para minimização:

```
> gmx grompp -f min.mdp -c up2.gro -p up2.top -o up2_vac_min.tpr
```

Executar a minimização e gerar o arquivo up2_vac_min-run.gro:

```
> gmx mdrun -s up2_vac_min.tpr -deffnm up2_vac_min -v >& up2_vac_min.out  
> editconf -f up2_vac_min-run.gro -o up2_vac_min-run.pdb (transforma em PDB caso não tenha o VMD para visualizar o GRO)
```

Gerar o arquivo binário up2_nvt.tpr para a simulação:

```
> gmx grompp -f nvt.mdp -c up2_vac_min.gro -p up2.top -o up2_nvt.tpr -maxwarn 1
```

Executar a simulação no vácuo:

```
> gmx mdrun -s up2_nvt.tpr -deffnm up2_nvt -v >& up2_nvt.out
```

Outras opções dos comandos: `pdb2gmx`, `editconf`, `grompp` e `mdrun` podem ser visualizadas com a opção `-h`.

No diretório `gromos53a6.ff` lembre-se de modificar os arquivos: `aminoacids.rtp` e `ffbonded.itp`

4) Adição de Hs da cadeia carbônica na última configuração da minimização ou simulação (no arquivo *.gro de saída):

Copie o campo de força gmx.ff para o diretório ./simulation e modifique os arquivos no diretório ./simulation/gmx.ff para incluir o parâmetros dos Hs do soluto no campo de força gmx:

- aminoacids.rtp (inclui as informações dos Hs no [UP2])
- aminoacids.hdb (inclui as informações dos átomos nos quais os Hs estão ligados)

Utilize o arquivo de saída da minimização: up2_vac_min.gro para gerar o arquivo up2_vac_min+h.pdb com os Hs:

```
> gmx pdb2gmx -f up2_vac_min.gro -o up2_vac_min+h.pdb -ff ./simulation/gmx.ff -  
water none -p up2_vac_min+h.top -i up2_vac_min+h.itp
```

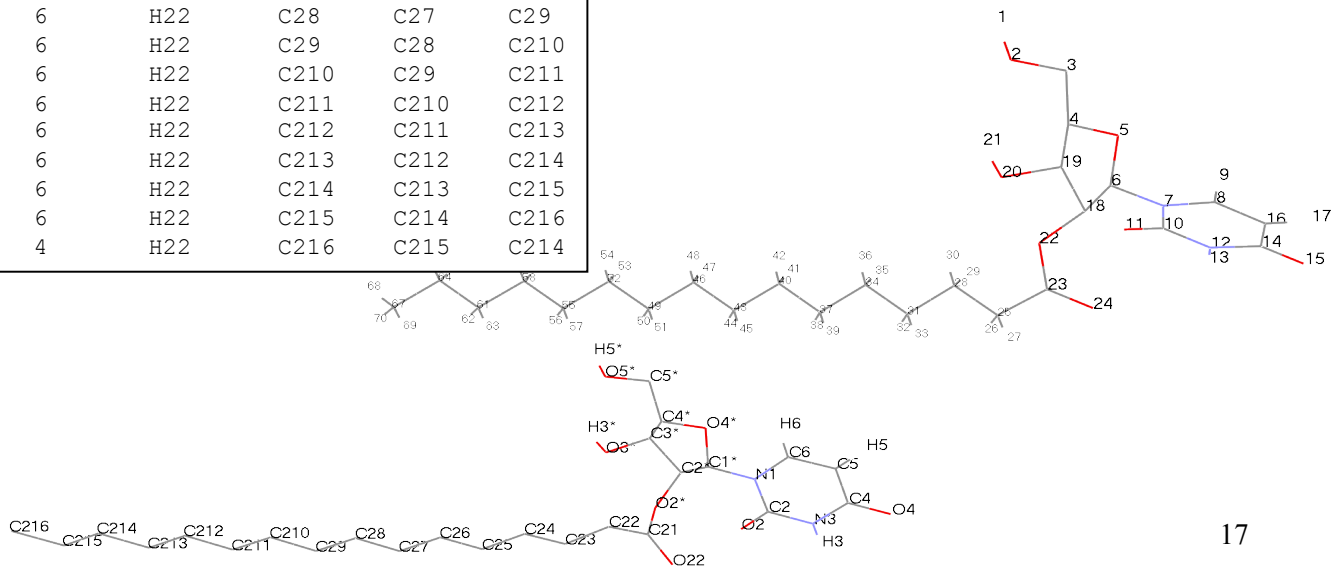

Incluir os H221, H222 e H223 nos [atoms] do [UP2] em gromos53a6.ff/aminoacids.rtp e copiar para gmff.ff/aminoacids.rtp

gmff.ff/aminoacids.hdb

UP2	15				
2	6	H22	C22	C21	C23
2	6	H22	C23	C22	C24
2	6	H22	C24	C23	C25
2	6	H22	C25	C24	C26
2	6	H22	C26	C25	C27
2	6	H22	C27	C26	C28
2	6	H22	C28	C27	C29
2	6	H22	C29	C28	C210
2	6	H22	C210	C29	C211
2	6	H22	C211	C210	C212
2	6	H22	C212	C211	C213
2	6	H22	C213	C212	C214
2	6	H22	C214	C213	C215
2	6	H22	C215	C214	C216
3	4	H22	C216	C215	C214

gmff.ff/aminoacids.rtp

```
[ UP2 ]
[ atoms ]
; a type charge cgroup
H221 H 0.00000 18
H222 H 0.00000 18
H223 H 0.00000 18
```



Etapas de análise:

1) Conferir dados de entrada no arquivo padrão de saída: [output.out](#)

```
      :-) G R O M A C S (-:
      Grunge ROck MACHoS
      :-) VERSION 4.5.4 (-:

.
Getting Loaded...
Reading file up2_vac_min.tpr, VERSION 4.5.4 (single precision)
NOTE: Parallelization is limited by the small number of atoms,
      only starting 1 threads.
      You can use the -nt option to optimize the number of threads.
Loaded with Money

Steepest Descents:
  Tolerance (Fmax)   = 1.00000e+00
  Number of steps    = 25000
Step= 0, Dmax= 1.0e-02 nm, Epot= 2.80109e+02 Fmax= 7.31658e+02, atom= 23
Step= 1, Dmax= 1.0e-02 nm, Epot= 5.24442e+02 Fmax= 1.05546e+04, atom= 23
Step= 2, Dmax= 5.0e-03 nm, Epot= 3.26337e+02 Fmax= 4.65193e+03, atom= 23
Step= 3, Dmax= 2.5e-03 nm, Epot= 2.84779e+02 Fmax= 1.91171e+03, atom= 23
Step= 4, Dmax= 1.2e-03 nm, Epot= 2.77897e+02 Fmax= 6.63492e+02, atom= 22
Step= 5, Dmax= 1.5e-03 nm, Epot= 2.78821e+02 Fmax= 1.33307e+03, atom= 23
Step= 6, Dmax= 7.5e-04 nm, Epot= 2.76608e+02 Fmax= 4.02456e+02, atom= 23

.
Step=16077, Dmax= 1.5e-06 nm, Epot= 2.16197e+02 Fmax= 9.87983e+00, atom= 14
Step=16078, Dmax= 1.8e-06 nm, Epot= 2.16199e+02 Fmax= 7.61529e+00, atom= 14
Stepsize too small, or no change in energy.
Converged to machine precision,
but not to the requested precision Fmax < 1

Double precision normally gives you higher accuracy.

writing lowest energy coordinates.

Steepest Descents converged to machine precision in 16079 steps,
but did not reach the requested Fmax < 1.
Potential Energy = 2.1619743e+02
Maximum force    = 9.8798285e+00 on atom 14
Norm of force    = 3.1266160e+00
```

Étapas de análise:

2) O principal arquivo de saída é o arquivo binário com terminação trr (*.trr). Esse arquivo *.trr contém as posições e velocidades dos átomos do sistema e pode ser analisado por vários programas de análise.

A primeira análise deve ser de energia com o comando:

```
gmx energy -f up2_nvt-run.edr -s up2_nvt.tpr
```

Select the terms you want from the following list by selecting either (part of) the name or the number or a combination. End your selection with an empty line or a zero.

1 G96Bond	2 G96Angle	3 Proper-Dih.	4 Improper-Dih.
5 LJ-14	6 Coulomb-14	7 LJ-(SR)	8 Coulomb-(SR)
9 RF-excl.	10 Potential	11 Kinetic-En.	12 Total-Energy
13 Conserved-En.	14 Temperature	15 Pressure	16 Vir-XX
17 Vir-XY	18 Vir-XZ	19 Vir-YX	20 Vir-YY
21 Vir-YZ	22 Vir-ZX	23 Vir-ZY	24 Vir-ZZ
25 Pres-XX	26 Pres-XY	27 Pres-XZ	28 Pres-YX
29 Pres-YY	30 Pres-YZ	31 Pres-ZX	32 Pres-ZY
33 Pres-ZZ	34 #Surf*SurfTen	35 Mu-X	36 Mu-Y

Etapas de análise:

3) Para gerar as energias de interação entre grupos que não foram inicialmente previstos no arquivo *.mdp da simulação quando já existe uma trajetória *.trr gerada:

1) Copie para um diretório diferente os arquivos *.mdp e demais para gerar um novo arquivo *.tpr e o arquivo de trajetórias *.trr.

2) Edite o arquivo *.mdp e coloque uma linha definindo as moléculas que definem seus grupos de energia: energygrps = MO1 MO2 MO3 MO4

3) Crie um arquivo **index.ndx** com os números dos átomos desses grupos.

```
> make_ndx -f thr.gro -o index.ndx
```

4) Execute o comando grompp com *.mdp e com o **index.ndx**:

```
> gmx grompp -f input.mdp ..... -o topol.tpr -n index.ndx
```

5) Execute o mdrun com a opção de rerun só para calcular as energias de interação entre os grupos:

```
> gmx mdrun -s topol.tpr -rerun traj.trr -e ener.edr
```

6) Execute o comando gmx energy com o arquivo gerado:

```
> gmx energy -f ener.edr -s topol.tpr -o energy.svg
```

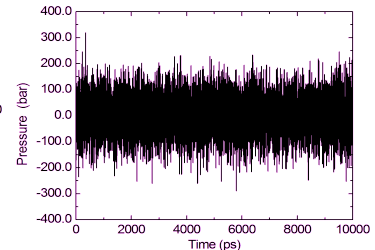
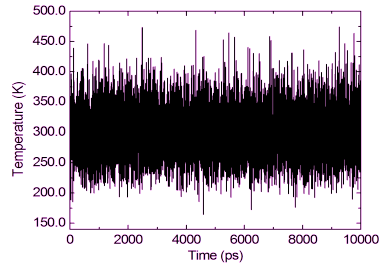
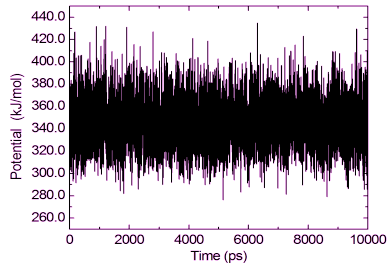
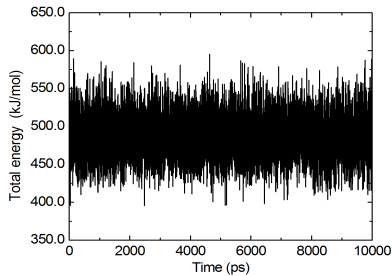
Etapas de análise:

Last energy frame read 10000 time 10000.000

Statistics over 10000001 steps [0.0000 through 10000.0000 ps], 6 data sets
All statistics are over 2000001 points

Energy	Average	Err.Est.	RMSD	Tot-Drift	
Potential	345.066	0.41	21.0214	-1.18202	(kJ/mol)
Kinetic En.	142.132	0.055	18.8013	0.178617	(kJ/mol)
Total Energy	487.199	0.43	28.2425	-1.00341	(kJ/mol)
Temperature	299.903	0.12	39.6712	0.376888	(K)
Pressure	0.00440807	0.0033	72.9946	0.0127406	(bar)

A saída é um arquivo energy.xvg pronto para ser graficado no xmgrace.



Etapas de análise:

4) Em seguida é interessante fazer a construção de grupos de análise no arquivo `index.ndx`, pois pode ser necessário para outras análises, com o comando:

```
gmx make_ndx -f up2.pdb -o index.ndx
```

Reading structure file

Going to read 0 old index file(s)

Analysing residue names:

There are: 1 Other residues

Analysing residues not classified as Protein/DNA/RNA/Water and splitting into groups...

0 System : 39 atoms

1 Other : 39 atoms

2 UP2 : 39 atoms

nr : group ! 'name' nr name 'splitch' nr Enter: list groups

'a': atom & 'del' nr 'splitres' nr 'l': list residues

't': atom type | 'keep' nr 'splitat' nr 'h': help

'r': residue 'res' nr 'chain' char

"name": group 'case': case sensitive 'q': save and quit

'ri': residue index

> del 1

Removed group 1 'Other'

> del 1

Removed group 1 'UP2'

>q

[index.ndx](#)

[System]														
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
31	32	33	34	35	36	37	38	39						

Etapas de análise:

5) Adição de Hs da cadeia carbônica na trajetória toda

Tendo editado os arquivos aminoacids.rtp e aminoacids.hdb do diretório ./simulation/gmx.ff é necessário transformar o arquivo de trajetória em pdb num dado intervalo (-skip 100) com o comando:

```
gmx trjconv -f up2_nvt.trr -o up2_nvt-trr.pdb -t0 500 -s up2_nvt.tpr -n index.ndx -skip 100 -ndec 5
```

e separar as configurações com o comando:

```
split -l 46 -d -a 3 up2_nvt-run-trr.pdb
```

-l 46 (indica que cada configuração tem 46 linhas)

-d (os arquivo de saída terão diferenciador numérico)

-a 3 (o diferenciador numérico terá 3 dígitos)

Usar o comando: sh add.sh

```
#!/bin/sh
for i in x ???
do
    echo $i
    cp $i $i.pdb
    gmx pdb2gmx -f $i.pdb -o $i+h.pdb
    -ff gmx.ff -water none -p $i.top -i $i.itp
    \rm $i.pdb $i.top $i.itp
done

cat x???+h.pdb > traj+h.pdb
```

Etapas de análise:

6) Analisar ângulos de torção

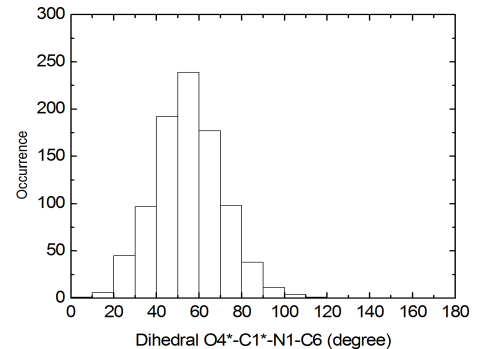
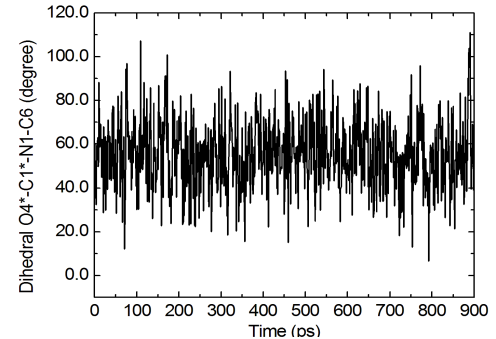
Criar vários arquivos, `dihedral.ndx`, com linhas que definem os nomes dos grupos e os conjuntos dos 4 átomos que formam o ângulo de torção:

```
[ O4C1N1C6 ]
5 6 7 8
[ C1C2O2C21 ]
6 18 22 23
```

Executar o comando para gerar o arquivo `do4c1n1c6.xvg`, com os dados no formato do `xmgrace`:

```
> gmx angle -f up2_npt-run.trr -n dihedral.ndx
-ov do4c1n1c6 -type dihedral
```

```
Group      0 (      O4C1N1C6) has      4 elements
Group      1 (      C1C2O2C21) has      4 elements
Select a group: 0
Selected 0: 'O4C1N1C6'
trn version: GMX_trn_file (single precision)
Reading frame      900 time 900.000
Found points in the range from 186 to 292 (max 360)
< angle > = 55.2178
< angle^2 > = 3294.02
Std. Dev. = 15.6529
Order parameter S^2 = 0.928323
```



Etapas de análise:

7) Analisar funções de distribuição radial de pares (intramolecular)

Criar vários arquivos, atup2.ndx, com linhas que definem os nomes dos átomos e os números dos átomos:

```
> gmx make_ndx -f up2.gro -o atup2.ndx
```

```
Analysing residues not classified as Protein/DNA/RNA/Water and splitting into groups...
```

```
0 System      : 6498 atoms
1 Other       : 39 atoms
2 UP2        : 39 atoms
nr : group    ! 'name' nr name 'splitch' nr Enter: list groups
'a': atom    & 'del' nr 'splitres' nr 'l': list residues
't': atom type | 'keep' nr 'splitat' nr 'h': help
'r': residue  'res' nr 'chain' char
"name": group 'case': case sensitive 'q': save and quit
'ri': residue index
```

```
> del 1
```

```
Removed group 1 'Other'
```

```
> del 0
```

```
Removed group 3 'System'
```

```
> a O2
```

```
Found 1 atoms with name O2
```

```
1 O2      : 1 atoms
```

```
> a O4
```

```
Found 1 atoms with name O4
```

```
2 O4      : 1 atoms
```

```
> a O2*
```

```
Found 1 atoms with name O2*
```

Etapas de análise:

Executar o comando para gerar o arquivo rdfo4o3.xvg:

```
> gmx rdf -f up2-agua_npt-run.trr -s up2_npt.tpr -o rdf-o4o3 -cn rdf_cn-o4o3 -n
atup2.ndx -bin 0.005
```

```
Select a reference group and 1 group
```

```
Group 0 ( UP2) has 39 elements
Group 1 ( O2) has 1 elements
Group 2 ( O4) has 1 elements
Group 3 ( O3*) has 1 elements
Group 4 ( O4*) has 1 elements
Group 5 ( O5*) has 1 elements
Group 6 ( O22) has 1 elements
Group 7 ( C26) has 1 elements
Group 8 ( C212) has 1 elements
Group 9 ( C216) has 1 elements
```

```
Select a group: 2
```

```
Selected 2: 'O4'
```

```
Select a group: 3
```

```
Selected 3: 'O3*'
```

```
trn version: GMX_trn_file (single precision)
```

```
Reading frame 900 time 900.000
```

```
> gmx rdf -f up2-agua_npt-run.trr -s up2_npt.tpr -o rdf-o4o5 -cn rdf_cn-o4o5 -n
atup2.ndx -bin 0.005
```

```
Select a group: 2
```

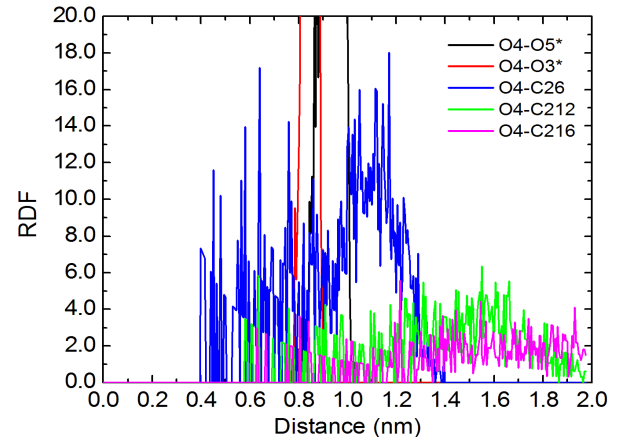
```
Selected 2: 'O4'
```

```
Select a group: 5
```

```
Selected 5: 'O5*'
```

```
trn version: GMX_trn_file (single precision)
```

```
Reading frame 900 time 900.000
```



Minimização e simulação em solvente (água)

3. Execução

Gerar um diretório para fazer a simulação:

```
> mkdir simulaagua
> cd simulaagua
> cp -r /usr/local/gromacs/share/gromacs/top/spc216.gro .
> cp -r ../simula/gromos53a6.ff * .
> cp ../simula/up2_vac_min-run.gro .
> ls
gromos53a6.ff  min-agua.mdp  npt-agua.mdp  spc216.gro  up2_vac_min-run.gro
```

Gerar o up2-agua.top e up2-agua.pdb a partir da conformação minimizada up2_vac_min.gro informando que o solvente será água SPC:

```
> gmx pdb2gmx -f up2_vac_min-run.gro -o up2_min.pdb -p up2-agua.top -ff gromos53a6
-water spc
```

```
----- PLEASE NOTE -----
```

```
You have successfully generated a topology from: up2_vac_min-run.gro.
The Gromos53a6 force field and the spc water model are used.
```

```
----- ETON ESAELP -----
```

Gerar o up2-agua.top e up2-agua.gro a partir do up2_min.pdb (que já tem o tamanho da caixa) e da caixa com 216 moléculas de água SPC:

```
> gmx solvate -cp up2_min.pdb -cs spc216.gro -p up2-agua.top -o up2-agua.gro
```

```
Output configuration contains 6498 atoms in 2154 residues
```

```
Volume : 64 (nm^3)
```

```
Density : 1017.98 (g/l)
```

```
Number of SOL molecules: 2153
```

Gerar o arquivo binário up2-agua_min.tpr para minimização:

```
> gmx grompp -f min-agua.mdp -c up2-agua.gro -p up2-agua.top -o up2-agua_min.tpr
```

Executar a minimização e gerar o arquivo up2-agua_min-run.gro:

```
> gmx mdrun -s up2-agua_min.tpr -deffnm up2-agua_min-run -v >& up2-agua_min.out
```

Gerar o arquivo binário up2-agua_nvt.tpr para a simulação:

```
> gmx grompp -f npt-agua.mdp -c up2-agua_min-run.gro -p up2-agua.top -o up2-agua_npt.tpr
```

Executar a simulação em água:

```
> gmx mdrun -s up2-agua_npt.tpr -deffnm up2-agua_npt-run -v >& up2-agua_npt.out
```

ATENÇÃO COM A MENSAGEM ABAIXO:

```
NOTE 1 [file up2-agua.top, line 297]:
```

```
The bond in molecule-type Other between atoms 12 N3 and 13 H3 has an  
estimated oscillational period of 1.0e-02 ps, which is less than 10 times  
the time step of 1.0e-03 ps.
```

```
Maybe you forgot to change the constraints mdp option.
```

min-agua.mdp

```
integrator          = steep
tinit              = 0.0
dt                 = 0.001
nsteps             = 25000
emtol              = 1
nstcomm           = 5
comm-grps         = UP2 SOL
nstxout           = 10
nstvout           = 10
nstfout           = 0
nstlog            = 10
nstenergy         = 10
nstxtcout         = 10
xtc_precision     = 10
xtc-grps          =
energygrps        = UP2 SOL
nstlist           = 5
ns_type           = grid
pbc                = xyz
rlist              = 1.4
coulombtype       = reaction-field
rcoulomb          = 1.4
epsilon_rf        = 78.5
vdw_type          = cut-off
rvdw              = 1.4
DispCorr          = No
constraints        = none
```

npt-agua.mdp

```
integrator          = md
tinit              = 0.0
dt                 = 0.001
nsteps             = 5000000
emtol              = 1
comm-mode         =          = Angular
nstcomm           = 5
comm-grps         = UP2 SOL
nstxout           = 1000
nstvout           = 1000
nstfout           = 0
nstlog            = 1000
nstenergy         = 1000
nstxtcout         = 1000
xtc_precision     = 1000
xtc-grps          =
energygrps        = UP2 SOL
nstlist           = 5
ns_type           = grid
pbc                = xyz
rlist              = 1.4
coulombtype       = reaction-field
rcoulomb          = 1.4
epsilon_rf        = 78.5
vdw_type          = cut-off
rvdw              = 1.4
DispCorr          = No
tcoupl            = v-rescale
tc-grps           = UP2 SOL
tau_t             = 0.1 0.1
ref_t             = 300 300
Pcoupl            = berendsen
Pcoupltype        = isotropic
tau_p             = 0.1
compressibility    = 4.51e-5
ref_p             = 1.0
constraints        = none
```

Etapas de análise:

1) Analisar funções de distribuição radial de pares:

```
> gmx make_ndx -f up2-agua.gro -o atop2w.ndx
Analysing residues not classified as Protein/DNA/RNA/Water and splitting into groups...
 0 System          : 6498 atoms
 1 Other           :   39 atoms
 2 UP2             :   39 atoms
 3 Water           : 6459 atoms
 4 SOL             : 6459 atoms
 5 non-Water       :   39 atoms
nr : group        ! 'name' nr name 'splitch' nr      Enter: list groups
'a': atom         & 'del' nr      'splitres' nr  'l': list residues
't': atom type   | 'keep' nr      'splitat' nr   'h': help
'r': residue     'res' nr      'chain' char
"name": group    'case': case sensitive  'q': save and quit
'ri': residue index
> del 1
Removed group 1 'Other'
> del 3
Removed group 3 'SOL'
> del 4
Removed group 3 'non-Water'
> a O2
Found 1 atoms with name O2
 4 O2             :   1 atoms
> a O4
Found 1 atoms with name O4
 5 O4             :   1 atoms
> a OW
Found 2153 atoms with name OW
```

Etapas de análise:

```
> gmx rdf -f up2-agua_npt-run.trr -s up2-agua_npt.tpr -o rdf-o4o5 -cn rdf_cn-o4o5 -n
atup2w.ndx -bin 0.005 -b 100
```

```
Select a reference group and 1 group
```

```
Group 0 ( System) has 6498 elements
Group 1 ( UP2) has 39 elements
Group 2 ( Water) has 6459 elements
Group 3 ( O2) has 1 elements
Group 4 ( O4) has 1 elements
Group 5 ( O3*) has 1 elements
Group 6 ( O5*) has 1 elements
Group 7 ( C26) has 1elements
Group 8 ( C212) has 1 elements
Group 9 ( C216) has 1 elements
Group 10 ( OW) has 2153 elements
```

```
Select a group: 4
```

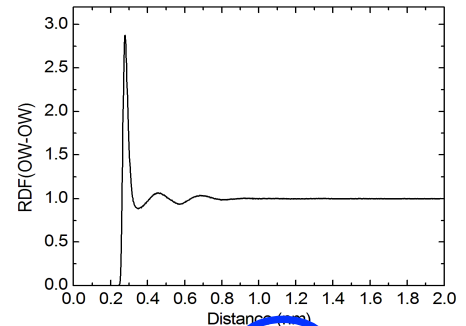
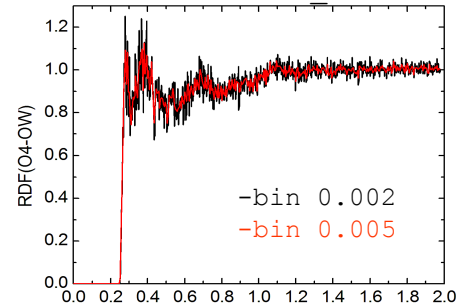
```
Selected 4: 'O4'
```

```
Select a group: 10
```

```
Selected 10: 'OW'
```

```
trn version: GMX_trn_file (single precision)
```

```
Reading frame 900 time 900.000
```



```
> gmx rdf -f up2-agua_npt-run.trr -s up2-agua_npt.tpr -o rdf-owow -cn rdf_cn-owow -n
atup2w.ndx -bin 0.005 -b 100
```

```
Select a group: 10
```

```
Selected 10: 'OW'
```

```
Select a group: 10
```

```
Selected 10: 'OW'
```

gera $N(r)$

Etapas de análise:

2) Analisar de ligações de hidrogênio:

Crítérios: -a 30.0 Cutoff angle (degrees, A-D-H); -r 0.35 Cutoff radius (nm, X - Acceptor); -da yes Donor-Acceptor (if TRUE) or Hydrogen-Acceptor (FALSE)

```
> gmx hbond -f up2-agua_npt-run.trr -s up2-agua_npt.tpr -n -num -g -ac -dist -ang -hbn -don -dan -life -nhbdist -da yes -r 0.35 -a 35.0
```

```
Specify 2 groups to analyze:
```

```
Group 0 ( System) has 6498 elements
Group 1 ( UP2) has 39 elements
Group 2 ( Water) has 6459 elements
```

```
Select a group: 1
```

```
Selected 1: 'UP2'
```

```
Select a group: 2
```

```
Selected 2: 'Water'
```

```
Checking for overlap in atoms between UP2 and Water
```

```
Calculating hydrogen bonds between UP2 (39 atoms) and Water (6459 atoms)
```

```
Found 2156 donors and 2162 acceptors
```

```
Making hbmap structure...done.
```

```
trn version: GMX_trn_file (single precision)
```

```
Reading frame 0 time 0.000
```

```
Will do grid-search on 9x9x9 grid, rcut=0.35
```

```
Reading frame 900 time 900.000
```

```
Found 1445 different hydrogen bonds in trajectory
```

```
Found 3258 different atom-pairs within hydrogen bonding distance
```

```
Merging hbonds with Acceptor and Donor swapped
```

```
2156/2156
```

```
- Reduced number of hbonds from 1445 to 1374
```

```
- Reduced number of distances from 3258 to 3258
```

```
Average number of hbonds per timeframe 7.654 out of 2.33064e+06 possible
```

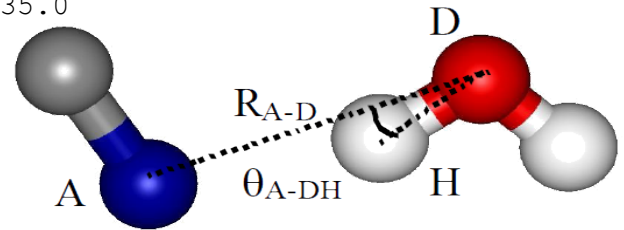
```
++++ PLEASE READ AND CITE THE FOLLOWING REFERENCE ++++
```

```
D. van der Spoel, P. J. van Maaren, P. Larsson and N. Timneanu
```

```
Thermodynamics of hydrogen bonding in hydrophilic and hydrophobic media
```

```
J. Phys. Chem. B 110 (2006) pp. 4393-4398
```

```
----- Thank You -----
```



Etapas de análise:

Doing autocorrelation according to the theory of Luzar and Chandler.

ACF 1374/1374

Normalization for $c(t) = 0.130511$ for $gh(t) = 1$

Hydrogen bond thermodynamics at $T = 298.15$ K

Fitting parameters $\chi^2 = 0.00982687$

$Q = 0$

```
-----  
Type          Rate (1/ps) Time (ps)  DG (kJ/mol)  Chi^2  
Forward              1.012    0.988    4.498  0.00982687  
Backward              0.000   2725.160   24.137  
One-way              0.387    2.581    6.879  
Integral             0.145    6.891    9.313  
Relaxation           0.254    3.937    7.925
```

HB lifetime = 1.93 ps

Note that the lifetime obtained in this manner is close to useless

Use the `-ac` option instead and check the Forward lifetime

++++ PLEASE READ AND CITE THE FOLLOWING REFERENCE ++++

D. van der Spoel, P. J. van Maaren, P. Larsson and N. Timneanu

Thermodynamics of hydrogen bonding in hydrophilic and hydrophobic media

J. Phys. Chem. B 110 (2006) pp. 4393-4398

----- Thank You -----

Etapas de análise:

Arquivos gerados: danum.xvg hbac.xvg hbdist.xvg hbnum.xvg hbond.ndx
nhbdist.xvg donor.xvg hbang.xvg hblife.xvg hbond.log

hbond.ndx

```
[ UP2 ]
  1    2    3    4    5    6    7    8    9   10   11   12   13   14   15
 16   17   18   19   20   21   22   23   24   25   26   27   28   29   30
 31   32   33   34   35   36   37   38   39
[ donors_hydrogens_UP2 ]
  2    1
 12   13
 20   21
[ acceptors_UP2 ]
  2    5    7   11   12   15   20   22   24
[ Water ]
 40   41   42   43   44   45 . . .
[ donors_hydrogens_Water ]
 40   41   40   42
 43   44   43   45
. . .
[ acceptors_Water ]
 40   43   46   49   52   55 . . .
[ hbonds_UP2-Water ]
  2    1   115
  2    1   145
  2    1   181 . . .
```

Etapas de análise:

#	Donor	Hydrogen	Acceptor
	UP21O5*	UP21H5*	SOL270W
	UP21O5*	UP21H5*	SOL370W
	UP21O5*	UP21H5*	SOL490W
	UP21O5*	UP21H5*	SOL760W
	UP21O5*	UP21H5*	SOL940W
	UP21O5*	UP21H5*	SOL1030W
	UP21O5*	UP21H5*	SOL1250W
	UP21O5*	UP21H5*	SOL1360W
	UP21O5*	UP21H5*	SOL1380W
. . .			
	UP21N3	UP21H3	SOL250W
	UP21N3	UP21H3	SOL270W
	UP21N3	UP21H3	SOL370W
	UP21N3	UP21H3	SOL440W
	UP21N3	UP21H3	SOL790W
	UP21N3	UP21H3	SOL1200W
	UP21N3	UP21H3	SOL1230W
. . .			
	UP21O3*	UP21H3*	SOL830W
	UP21O3*	UP21H3*	SOL920W
	UP21O3*	UP21H3*	SOL940W
	UP21O3*	UP21H3*	SOL1820W
. . .			
	SOL30W	SOL3HW1	UP21O4
	SOL60W	SOL6HW1	UP21O3*
	SOL60W	SOL6HW1	UP21O2*
	SOL90W	SOL9HW1	UP21O4
	SOL170W	SOL17HW1	UP21O4*
	SOL170W	SOL17HW1	UP21O3*

hbond.log

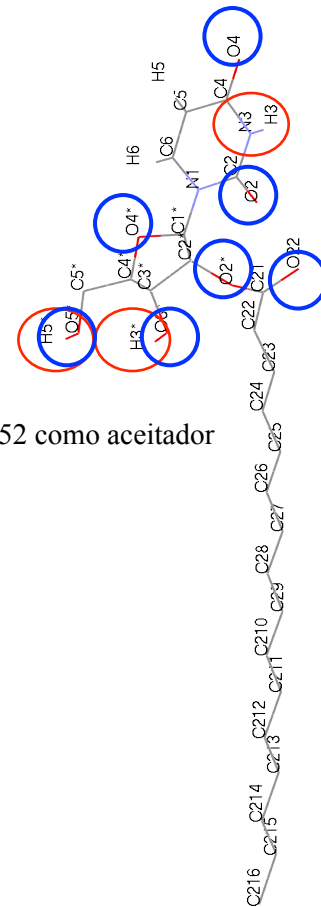
Análise de 910 configurações:

1374 H bonds:
322 como doador e

1052 como aceitador

UP21N3-UP21H3 = 136
UP21O5*-UP21H5* = 131
UP21O3*-UP21H3* = 55

UP21O4 = 266
UP21O2 = 203
UP21O22 = 173
UP21O4* = 130
UP21O3* = 117
UP21O2* = 59
UP21O5* = 90
UP21N1 = 10
UP21N3 = 4



Etapas de análise:

`hbnum.xvg` = H Bonds

Time, t (ps) x Hydrogen bonds

Time, t (ps) x Pairs within 0.35 nm

`danum.xvg` = Donors and Acceptors

Time, t (ps) x Donors UP2

Time, t (ps) x Acceptors UP2

t (ps) x Donors Water

Time, t (ps) x Acceptors Water

`donor.xvg` = Donor properties:

Time, t (ps) x Nbound

Time, t (ps) x Nfree

`hblife.xvg` = Uninterrupted H bond lifetime

Time, t (ps) x p(t)

Time, t (ps) x t p(t)

`hbdist.xvg` = H Bond Distribution:

Hydrogen - Acceptor Distance (nm)

`hbang.xvg` = H Bond Distribution:

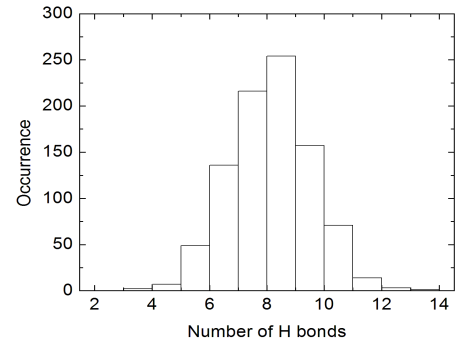
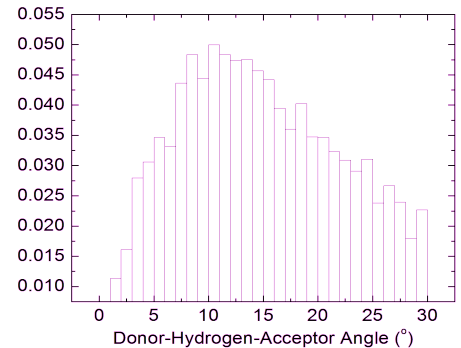
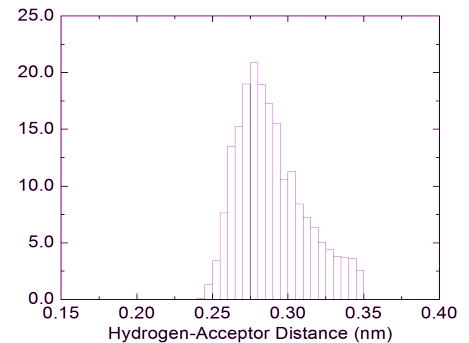
Donor - Hydrogen - Acceptor Angle (°)

`hbac.xvg` = H Bond Autocorrelation:

Time, t (ps) x C(t)

Disciplina: SiComLiMol

Time,



Minimização e simulação em solvente (outro)

Gerar um diretório para fazer a simulação:

```
> mkdir simulachcl3
> cd simulachcl3
> cp -r ../simula/gromos53a6.ff * .
> cp ../simula/up2_vac_min-run.gro .
> ls
clorof.gro  min-clorof.mdp  up2_vac_min-run.gro
gromos53a6.ff  npt-clorof.mdp
```

No diretório gromos53a6.ff lembre de modificar o arquivo watermodels.dat para incluir a linha (clorof Cloroformio as solvent) e criar o cloroformio.ipt

Gerar o up2-clorof.top e up2-clorof.pdb a partir da conformação minimizada up2_vac_min.gro informando que o solvente será clorofórmio clorof:

```
> gmx pdb2gmx -f up2_vac_min-run.gro -o up2_min.pdb -p up2-clorof.top -ff
gromos53a6
```

```
Using the Gromos53a6 force field in directory ./gromos53a6.ff
```

```
Opening force field file ./gromos53a6.ff/watermodels.dat
```

```
Select the Water Model:
```

- 1: SPC simple point charge, recommended
- 2: SPC/E extended simple point charge
- 3: Cloroformio as solvent
- 4: None

----- PLEASE NOTE -----

You have successfully generated a topology from: up2_vac_min-run.gro.
The Gromos53a6 force field and the clorof water model are used.

----- ETON ESAELP -----

Gerar o up2-clorof.top e up2-clorof.gro a partir do up2_min.pdb (que já tem o tamanho da caixa) e da caixa com 216 moléculas de clorofórmio:

```
> gmx solvate -cp up2_min.pdb -cs clorof.gro -p up2-clorof.top -o up2-clorof.gro
```

```
Output configuration contains 1874 atoms in 368 residues
```

```
Volume : 64 (nm^3)
```

```
Density : 1148.34 (g/l)
```

```
Number of SOL molecules: 367
```

Gerar o arquivo binário up2-clorof_min.tpr para minimização:

```
> gmx grompp -f min-clorof.mdp -c up2-clorof.gro -p up2-clorof.top -o up2-clorof_min.tpr
```

Executar a minimização e gerar o arquivo up2-clorof_min-run.gro:

```
> gmx mdrun -s up2-clorof_min.tpr -deffnm up2-clorof_min-run -v >& up2-clorof_min.out
```

Gerar o arquivo binário up2-clorof_nvt.tpr para a simulação:

```
> gmx grompp -f npt-clorof.mdp -c up2-clorof_min-run.gro -p up2-clorof.top -o up2-clorof_npt.tpr
```

Executar a simulação em clorofórmio:

```
> gmx mdrun -s up2-clorof_npt.tpr -deffnm up2-clorof_npt-run -v >& up2-clorof_npt.out
```

cloroformio.itp

```
[ moleculetype ]
; molname      nrexcl
SOL             3

[ atoms ]
  1   CCh1 1 SOL   CCh1 1  0.17900 12.0000
  2   HCh1 1 SOL   HCh1 1  0.08200 1.00790
  3  CLCh1 1 SOL  CLCh1 1 -0.08700 35.45300
  4  CLCh1 1 SOL  CLCh2 1 -0.08700 35.45300
  5  CLCh1 1 SOL  CLCh3 1 -0.08700 35.45300

[ exclusions ]
  1     3     4
  1     4     5
  1     3     2
  1     5     3
  2     3     4
  2     5     4
  2     5     1
  2     3     1
  3     4     5
  3     1     5
  5     1     4
  5     1     3

[ bonds ]
; i      j      funct      length      force.c.
  1     3     1          0.1758      8.1200e+06
  1     4     1          0.1758      8.1200e+06
  1     5     1          0.1758      8.1200e+06
  2     3     1          0.233839   2.6800e+06
  2     4     1          0.233839   2.6800e+06
  2     5     1          0.233839   2.6800e+06
  3     4     1          0.290283   2.9800e+06
  3     5     1          0.290283   2.9800e+06
  4     5     1          0.290283   2.9800e+06
```

cloroformio.gro

```
216 CHCl3 generated from DICE
1080
  1SOL   CCh1   1   1.560   1.557   1.508
  1SOL   HCh1   2   1.640   1.606   1.451
  1SOL  CLCh1   3   1.633   1.513   1.662
  1SOL  CLCh2   4   1.512   1.418   1.411
  1SOL  CLCh3   5   1.433   1.678   1.523
  2SOL   CCh1   6   1.259   1.248   1.643
  2SOL   HCh1   7   1.281   1.336   1.580
  2SOL  CLCh1   8   1.108   1.183   1.580
  2SOL  CLCh2   9   1.244   1.311   1.807
  2SOL  CLCh3  10   1.396   1.140   1.623
  3SOL   CCh1  11   1.671   1.792   1.148
  3SOL   HCh1  12   1.579   1.731   1.149
  3SOL  CLCh1  13   1.657   1.897   1.288
  3SOL  CLCh2  14   1.668   1.879   0.995
  3SOL  CLCh3  15   1.803   1.676   1.161
  4SOL   CCh1  16   1.682   2.046   1.758
  4SOL   HCh1  17   1.614   2.128   1.785
  4SOL  CLCh1  18   1.723   2.073   1.589
  4SOL  CLCh2  19   1.591   1.898   1.785
  4SOL  CLCh3  20   1.820   2.062   1.866
.
.
.
215SOL   CCh1 1071   2.594   2.997   0.032
215SOL   HCh1 1072   2.534   3.081   0.069
215SOL  CLCh1 1073   2.698   3.066  -0.092
215SOL  CLCh2 1074   2.478   2.881  -0.032
215SOL  CLCh3 1075   2.682   2.937   0.172
216SOL   CCh1 1076   2.989   2.891   3.015
216SOL   HCh1 1077   2.932   2.933   2.931
216SOL  CLCh1 1078   3.141   2.837   2.946
216SOL  CLCh2 1079   2.889   2.759   3.076
216SOL  CLCh3 1080   3.007   3.022   3.130
  3.07000   3.07000   3.07000
```

Restart

```
gmx mdrun -s up2-clorof_npt.tpr -deffnm up2-clorof_npt-run  
-cpi up2-clorof_npt-run.cpt
```