

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE FÍSICA  
Programa de Pós-Graduação em Física

**Anomalias termodinâmicas da água na presença  
de macromoléculas hidrofílicas e hidrofóbicas**

Rafael de Carvalho Barbosa

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Física da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, sob orientação da Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marcia Cristina Bernardes Barbosa, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Porto Alegre, RS  
2015

### CIP - Catalogação na Publicação

de Carvalho Barbosa, Rafael  
Anomalias Termodinâmicas da Água na Presença de  
Macromoléculas Hidrofílicas e Hidrofóbicas / Rafael  
de Carvalho Barbosa. -- 2015.  
100 f.

Orientadora: Marcia Cristina Bernardes Barbosa.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio  
Grande do Sul, Instituto de Física, Programa de Pós-  
Graduação em Física, Porto Alegre, BR-RS, 2015.

1. Anomalia na Densidade. 2. Camada de Hidratação  
da Proteína. 3. Proteína TS-Kappa. I. Bernardes  
Barbosa, Marcia Cristina, orient. II. Título.

*Aos meus pais por toda base e apoio; à Andressa por toda  
cumplicidade e por me fazer sempre sonhar.*

# Agradecimentos

- À professora Marcia Barbosa, pela orientação, dedicação e pela oportunidade de ter convivido com uma pessoa extremamente competente e dedicada.
- Aos meus pais Airton e Ana Mara por terem me dado o que considero mais importante para a formação de uma pessoa: oportunidade. Agradeço à estatística por fazer parte dessa família.
- Ao meu irmão Leonardo. Sem ele esse trabalho não seria possível de ter sido realizado. Desde o momento que saí do Alegrete, encontrei nele e na minha família todo apoio e base para traçar o meu futuro.
- À Andressa por todo companheirismo, amizade, amor e paixão. Obrigado pela paciência nos momentos de tristeza, de angústia e, principalmente, por dividir a vida comigo.
- Aos meus amigos que carrego desde a infância e adolescência e que, por motivos diversos, acabamos nos distanciando geograficamente, porém sempre mantivemos valores e conversas atualizadas.
- Ao pequeno Panca por me trazer um sentimento único. O sentimento mais puro de entrega.
- Aos colegas da sala M205 pelos bons debates científicos e políticos e pelos momentos de diversão.
- Aos colegas do grupo de Fluidos Complexos da UFRGS, principalmente a Cíntia e o Alexandre que colaboraram de forma efetiva para esse trabalho.
- Aos professores que tive durante a graduação e mestrado na UFSM.
- Ao professor Paulo Netz pelas discussões e grande apoio no início do meu doutorado.
- A todo povo brasileiro que, a partir dos seus impostos, financiou esse trabalho via agência de fomento CAPES. Ou seja, de maneira direta ou indireta, todas as pessoas são responsáveis por esse trabalho.



---

*“Por um mundo onde sejamos socialmente iguais, humanamente diferentes e totalmente livres.”*

Rosa Luxemburgo

---

# Resumo

Utilizando simulação de dinâmica molecular estudamos as propriedades termodinâmicas da água em um sistema com macromoléculas hidrofóbicas e hidrofílicas. Em um primeiro momento utilizamos um sistema com uma proteína imersa em água. Os dois modelos atomísticos utilizados foram o modelo SPC/E e o modelo TIP4P-2005 e a proteína utilizada foi a toxina oriunda do escorpião brasileiro, TS-Kappa. Observamos para o sistema *bulk* e para o sistema com a proteína hidratada um máximo valor de densidade. Porém, analisando a densidade próximo à superfície da proteína, o comportamento anômalo não está mais presente. Para baixas temperaturas densidade da água próximo à proteína é maior do que no *bulk*. Nossos resultados mostram que o número de ligações de hidrogênio entre as moléculas de água na camada de hidratação da proteína, é menor que o número de ligações de hidrogênio para o sistema puro. A água na primeira camada de hidratação conecta-se com a superfície da proteína, além de ligar-se com outras moléculas de água vizinhas. medida que a temperatura diminui as moléculas de água tornam-se mais estruturadas próximo à região hidrofílica, e a densidade da água nessa região é maior do que a densidade da água na região hidrofóbica. Os resultados para a difusão nos mostram que a água diminui sua mobilidade na superfície da proteína, indicando uma maior conexão com sua superfície. Com o objetivo de estudar o comportamento da água em um sistema com interações hidrofílicas e hidrofóbicas, usamos um modelo mínimo com duas placas paralelas imersas em um fluido do tipo-água. Nossos resultados indicam que a densidade da água aumenta com a diminuição da temperatura e a água torna-se mais estruturada a medida que a temperatura diminui.

**Palavras-chave:** Anomalia na densidade, Camada de hidratação da proteína , Proteína TS-Kappa.

# Abstract

Using a molecular dynamics simulation we studied the thermodynamic properties of water in a system with a hydrophilic and hydrophobic macromolecule. At first, we used a system with a protein immersed in water. The models used were the SPC/E and the TIP4P-2005 water model and the chosen protein was the Brazilian scorpion toxin TS-Kappa. For bulk system and the protein hydrated system, the maximum value of density is present. However, the density of water near to the protein surface, the anomalous behavior is no longer verified. At lower temperatures the density of water near to protein surface is higher than the bulk. Our results show that the number of hydrogen bonds between water molecules in the hydration shell is lower than the number of hydrogen bonds in bulk water. The water in the first hydration shell connect with the hydrophilic protein surface besides the hydrogen bonds with other water molecules. As the temperature is decreased the water is more structured near the hydrophilic amino acid and the density in this region is higher than the density of water in the hydrophobic region. The diffusion values of water shows that hydration water is more connected with the protein surface, so the diffusion coefficient decreases in this region. In order to investigate the behavior of water in a hydrophobic and a hydrophilic system, we used a simple model of parallel plates immersed in a water-like fluid. Our results suggests the density of water increases with the decrease of temperature and the water is more structured as the temperatures is decreased.

**Keywords:** Density anomaly, Hydration shell of protein and TS-Kappa protein.



# Lista de Tabelas

|     |  |    |
|-----|--|----|
| 3.1 | Tabela de aminoácidos da proteína TS-Kappa . . . . . | 31 |
|-----|--|----|

# Lista de Figuras

|      |  |    |
|------|--|----|
| 1.1  | Representação da estrutura tetraédrica da água. É possível também observar as ligações de hidrogênio e os ângulos formados entre as moléculas de água [9] . . . . .  | 3  |
| 1.2  | Arranjos octaédricos representando dois tipos de estruturas formado por moléculas de água. Em A está representada a estrutura de maior aproximação dos tetrâmeros. Em B está representada a estrutura menos densa [9]. . . . .                         | 4  |
| 1.3  | Representação qualitativa do diagrama de fases da água pura [9]. Figura extraída de [10] . . . . .   | 5  |
| 1.4  | Figura que representa a <i>No man's land</i> . Também é possível observar a região onde se encontra o chamado segundo ponto crítico [14]. Figura extraída de [10] . . . . .  | 6  |
| 1.5  | Dados experimentais para a água <i>bulk</i> . Observa-se o máximo valor na densidade à pressão ambiente. . . . .   | 7  |
| 1.6  | Representação dos dados experimentais do comportamento anômalo da difusão da água <i>bulk</i> e também da temperatura de máxima densidade, representada pelos círculos não preenchidos [16]. . . . .   | 7  |
| 1.7  | Em (a) é mostrado o resultado experimental para a água <i>bulk</i> . É possível observar a linha de TMD e o máximo na difusão [18]. Em (b) é apresentado o diagrama P <i>versus</i> T. Adaptado de [19]. . . . .                                       | 8  |
| 1.8  | Em (a) é mostrado a curva D <i>versus</i> $\rho$ para água <i>bulk</i> para o modelo SPC/E. Em (b) estão representados os máximos e mínimos na difusão, e também o valor máximo de densidade para diferentes valores de temperatura e pressão. . . . . | 9  |
| 1.9  | Figura representando os dados experimentais da água <i>bulk</i> . Em (a) é mostrado o comportamento anômalo da compressibilidade isotérmica. Em (b) é mostrado o comportamento anômalo do calor específico [15]. . . . .                               | 9  |
| 1.10 | Comportamento do parâmetro de ordem translacional em função da densidade. Esse comportamento é verificado para fluidos normais e também para fluidos anômalos [23]. . . . .  | 10 |
| 1.11 | Em (a) é apresentada a proteína TS-Kappa extraída do <i>Protein Data Bank</i> [2]. Em (b) a proteína é dividida em duas regiões: hidrofílica (azul) e hidrofóbica (vermelho). . . . .  | 12 |

|      |   |    |
|------|---|----|
| 1.12 | Representação esquemática da sequência da proteína TS-Kappa. É possível visualizar também os aminoácidos onde ocorrem as pontes de dissulfetos [2]. . . . .   | 12 |
| 1.13 | Figura representando o sistema com placas paralelas imersa em água. As partículas em amarela representam o fluido tipo água. . . . .  | 13 |
| 2.1  | Linhas contínuas representam os potenciais discretos e linhas pontilhadas os potenciais contínuos. Em (a) um potencial tipo ombro e os potenciais tipo rampa em (b) sem parte atrativa e (c) com parte atrativa. . . . .  | 18 |
| 2.2  | A linha contínua está representando o potencial contínuo isotrópico de duas escalas, enquanto a linha tracejada representa a força de interação entre as partículas. . . . .  | 20 |
| 2.3  | Representação dos potenciais de interação partícula-parede. A linha sólida representa o potencial repulsivo (WCA) e a linha tracejada representa o potencial atrativo (SAT). . . . .  | 21 |
| 3.1  | Em (a) está representada em <i>cartoon</i> a TS-Kappa. Em (b) temos as sequências de aminoácidos da proteína. As setas representam as folhas beta, enquanto que o símbolo helicoidal representa a alfa-hélice. . . . .  | 26 |
| 3.2  | Densidade <i>versus</i> temperatura para a água <i>bulk</i> (círculos abertos) e para o sistema com proteína (círculos fechados). Em (a) estão representados os resultados para o modelo SPC/E e em (b) os resultados para o modelo TIP4P-2005. Número de ligações de hidrogênio água-água por molécula de água <i>versus</i> temperatura para o sistema <i>bulk</i> (círculos abertos) e para o sistema com proteína (círculos fechados). Em (c) estão representados os resultados para o modelo SPC/E e em (d) os resultados para o modelo TIP4P-2005. As setas em (a) e (b) indicam a TMD para cada um desses modelos. . . . . | 27 |
| 3.3  | (a) Função de distribuição radial <i>versus</i> $r$ para o sistema com proteína hidratada para o modelo SPC/E. (b) Função de distribuição radial <i>versus</i> $r$ para o mesmo sistema, porém com o modelo TIP4P-2005. As seguintes temperaturas foram analisadas: 130K (curva contínua), 260K (curva tracejada) e 373K (curva pontilhada). . . . .  | 30 |
| 3.4  | Representação de um aminoácido em contato com água. A densidade de água próximo a esse aminoácido é obtida pela razão do número de moléculas de água pelo volume da região representada. . . . .  | 31 |
| 3.5  | (a) Densidade <i>versus</i> temperatura para o modelo de água SPC/E próximo à região hidrofílica e (b) Densidade <i>versus</i> temperatura para o modelo de água TIP4P-2005 próximo à região hidrofílica. O <i>inset</i> representa a densidade total das moléculas de água <i>versus</i> temperatura para a água <i>bulk</i> (triângulos abertos) e para a proteína hidratada (triângulos fechados). . . . .   | 32 |

|      |   |    |
|------|---|----|
| 3.6  | (a) Densidade <i>versus</i> temperatura para o modelo de água SPC/E próximo à região hidrofóbica e (b) Densidade <i>versus</i> temperatura para o modelo de água TIP4P-2005 próximo à região hidrofóbica. O <i>inset</i> representa a densidade total de moléculas de água <i>versus</i> temperatura para água <i>bulk</i> (triângulos abertos) e para a proteína hidratada (triângulos fechados). . . . .  | 33 |
| 3.7  | (a) Densidade média <i>versus</i> temperatura para o modelo SPC/E na camada de hidratação e (b) densidade média <i>versus</i> temperatura para o modelo TIP4P-2005 nessa mesma região. As densidade são calculadas próximas à região hidrofílica (linha pontilhada) e próxima à região hidrofóbica (linha tracejada) . . . . .  | 34 |
| 3.8  | (a) Tempo de vida média de uma ligação de hidrogênio água-água para a água <i>bulk</i> (linha sólida), próxima à região hidrofóbica (linha tracejada) e próxima à região hidrofílica (linha pontilhada). (b) Tempo de vida médio entre as ligações de hidrogênio entre a água e a superfície hidrofílica e a superfície hidrofóbica da proteína. (c) Número de ligações de hidrogênio entre água e as regiões hidrofílicas e hidrofóbicas da proteína. Todas essas informações foram obtidas para o modelo SPC/E. . . . . | 35 |
| 3.9  | (a) Número de ligações de hidrogênio água-água, por molécula de água, <i>versus</i> temperatura para o modelo SPC/E próximo à região hidrofílica. (b) Número de ligações de hidrogênio água-água, por molécula de água, <i>versus</i> temperatura para o modelo TIP4P-2005 próximo à região hidrofílica. O <i>inset</i> representa as ligações de hidrogênio entre as moléculas de água para o sistema <i>bulk</i> (triângulos abertos) e para o sistema com a proteína hidratada (triângulos fechados). . . . .          | 37 |
| 3.10 | (a) Número de ligações de hidrogênio água-água, por molécula de água, <i>versus</i> temperatura para o modelo SPC/E próximo à região hidrofóbica. (b) Número de ligações de hidrogênio água-água, por molécula de água, <i>versus</i> temperatura para o modelo TIP4P-2005 próximo à região hidrofílica . O <i>inset</i> representa as ligações de hidrogênio entre as moléculas de água para o sistema <i>bulk</i> (triângulos abertos) e para o sistema com a proteína hidratada (triângulos fechados). . . . .         | 38 |
| 3.11 | Número de ligações de hidrogênio médio, por molécula de água, <i>versus</i> temperatura para o modelo (a) SPC/E e para o modelo (b) TIP4P-2005, sobre todos aminoácidos hidrofílicos (linha pontilhada) e sobre todos aminoácidos hidrofóbicos (linha tracejada). . . . .   | 40 |
| 3.12 | (a) Difusão <i>versus</i> temperatura para a água próxima à região hidrofóbica da proteína. (b) Difusão <i>versus</i> temperatura para a água próxima à região hidrofílica da proteína. (c) Difusão média da água sobre todos os aminoácidos hidrofóbicos <i>versus</i> temperatura. (d) Difusão média da água sobre todos os aminoácidos hidrofílicos <i>versus</i> temperatura. Todos os cálculos foram realizados com o modelo SPC/E. . . . .  | 42 |

|      |   |    |
|------|---|----|
| 3.13 | (a) Difusão <i>versus</i> temperatura para a água próxima à região hidrofóbica da proteína. (b) Difusão <i>versus</i> temperatura para a água próxima à região hidrofílica da proteína. (c) Difusão média da água sobre todos os aminoácidos hidrofóbicos <i>versus</i> temperatura. (d) Difusão média da água sobre todos os aminoácidos hidrofílicos <i>versus</i> temperatura. Todos os cálculos foram realizados com o modelo TIP4P-2005. . . . . | 43 |
| 3.14 | (a) Difusão <i>versus</i> $r$ para a água próxima à região hidrofóbica e (b) Difusão <i>versus</i> $r$ para a água próxima à região hidrofílica. . . . .  | 44 |
| 4.1  | Representação esquemática do sistema de placas paralelas. Estão representados o tamanho da caixa de simulação $L^*$ e a distância entre as placas $d^*$ . . . . .   | 47 |
| 4.2  | Cortes em $z^*$ nos perfis de densidade transversal para (a) $d^* = 3,0$ , (b) $d^* = 6,0$ , (c) $d^* = 10,0$ para $L^* = 24,0$ para placas paralelas hidrofílicas. As placas localizam-se nos pontos (a) $z^* = -1,5$ e $1,5$ , (b) $-3,0$ e $3,0$ e (c) $-5,0$ e $5,0$ . . . . .  | 48 |
| 4.3  | $g_{  }(r_{  })$ <i>versus</i> $z^*$ para a uma camada (a) externa à placa e (b) para uma camada de contato na parte confinada para placas paralelas hidrofílicas. . . . .  | 49 |
| 4.4  | $g_{  }(r_{  })$ para a uma camada (a) externa à placa, (b) para uma camada de contato na parte confinada e (c) para a camada central da configuração de $d^* = 6,0$ e $L^* = 24,0$ para placas paralelas hidrofílicas. . . . .   | 50 |
| 4.5  | Corte em $z^*$ dos perfis de densidade transversal para (a) $d^* = 3,0$ , (b) $d^* = 6,0$ , (c) $d^* = 10,0$ para $L^* = 26,0$ para placas paralelas hidrofílicas. As placas estão em $z^* =$ (a) $-1,5$ e $1,5$ , (b) $-3,0$ e $3,0$ e (c) $-5,0$ e $5,0$ . . . . .  | 51 |
| 4.6  | $g_{  }(r_{  })$ para a uma camada (a) externa à placa, (b) para uma camada de contato na parte confinada e (c) para a camada central da configuração de $d^* = 6,0$ e $L^* = 26,0$ para placas paralelas hidrofílicas. . . . .   | 52 |
| 4.7  | Corte dos perfis de densidade transversal para (a) $d^* = 3,0$ , (b) $d^* = 6,0$ , (c) $d^* = 10,0$ para $L^* = 28,0$ para placas paralelas hidrofílicas. As placas estão em $z^* =$ (a) $-1,5$ e $1,5$ , (b) $-3,0$ e $3,0$ e (c) $-5,0$ e $5,0$ . . . . .   | 53 |
| 4.8  | $g_{  }(r_{  })$ <i>versus</i> $z^*$ para a uma camada (a) externa à placa, (b) para uma camada de contato na parte confinada e (c) para a camada central da configuração de $d^* = 6,0$ e $L^* = 28,0$ para placas paralelas hidrofílicas. . . . .   | 54 |
| 4.9  | Cortes em $z^*$ dos perfis de densidade transversal para (a) $d^* = 3,0$ , (b) $d^* = 6,0$ , (c) $d^* = 10,0$ para $L^* = 24,0$ para placas paralelas hidrofóbicas. As placas estão em $z^*$ (a) $-1,5$ e $1,5$ , (b) $-3,0$ e $3,0$ , (c) $-5,0$ e $5,0$ . . . . .   | 55 |
| 4.10 | $g_{  }(r_{  })$ <i>versus</i> $z^*$ para a uma camada (a) externa à placa, (b) para uma camada de contato na parte confinada e (c) para a camada central da configuração de $d^* = 6,0$ e $L^* = 24,0$ para placas paralelas hidrofóbicas. . . . .   | 56 |

|      |  |    |
|------|--|----|
| 4.11 | Cortes em $z^*$ dos perfis de densidade transversal para (a) $d^* = 3,0$ , (b) $d^* = 6,0$ , (c) $d^* = 10,0$ para $L^* = 26,0$ para placas paralelas hidrofóbicas. As placas estão em $z^* =$ (a) $-1,5$ e $1,5$ , (b) $-3,0$ e $3,0$ e (c) $-5,0$ e $5,0$ . . . . .  | 57 |
| 4.12 | Cortes em $z^*$ dos perfis de densidade transversal para (a) $d^* = 3,0$ , (b) $d^* = 6,0$ , (c) $d^* = 10,0$ para $L^* = 28,0$ para placas paralelas hidrofóbicas. As placas estão em $z^* =$ (a) $-1,5$ e $1,5$ , (b) $-3,0$ e $3,0$ e (c) $-5,0$ e $5,0$ . . . . .  | 58 |
| 4.13 | $g_{  }(r_{  })$ versus $z^*$ para a uma camada (a) externa à placa, (b) para uma camada de contato na parte confinada e (c) para a camada central da configuração de $d^* = 6,0$ e $L^* = 26,0$ em placas hidrofóbicas. . . . .   | 59 |
| 4.14 | Cortes em $z^*$ dos perfis de densidade transversal para (a) $d^* = 3,0$ , (b) $d^* = 6,0$ , (c) $d^* = 10,0$ para $L^* = 24,0$ para placas paralelas heterogêneas. . . . .  | 60 |
| 4.15 | $g_{  }(r_{  })$ versus $z^*$ para a uma camada (a) externa à placa, (b) para uma camada de contato na parte confinada e (c) para a camada central da configuração de $d^* = 6,0$ e $L^* = 24,0$ em placas heterogêneas. . . . .   | 61 |
| 4.16 | Cortes em $z^*$ dos perfis de densidade transversal para (a) $L^* = 24,0$ , (b) $L^* = 26,0$ , (c) $L^* = 28,0$ para $d^* = 6,0$ para placas paralelas com diferentes tipos de interações. Os símbolos SAT, MIX e WCA, representam as interações hidrofílicas, mistas e hidrofóbicas, respectivamente. . . . . | 62 |
| A.1  | Na Figura (a) está representada a geometria do modelo de água SPC/E, enquanto que na figura (b) está representada a geometria para o modelo TIP4P-2005. Nesses casos $\sigma$ representa um raio médio da molécula de água em cada caso. . . . .   | 67 |
| A.2  | Na Figura (a) está representada a curva representando os dados experimentais da linha de TMD e o máximo na difusão [18], já em (b) está representado o diagrama de $P \times T$ para o modelo SPC/E, adaptado de Netz <i>et. al</i> [19]. . . . .  | 69 |
| A.3  | Resultados teóricos para valores de densidade da água do tipo TIP4P-2005. É possível observar uma TMD em torno de $5^\circ C$ [69]. Os círculos representam o modelo TIP4P-2005 a $P = 1 atm$ . A curva em azul é referente ao modelo TIP4P/Ew [98] e a linha cheia representa os dados experimentais. . . . . | 69 |

# Sumário

|          |  |           |
|----------|--|-----------|
| <b>1</b> | <b>Introdução</b>  | <b>1</b>  |
| 1.1      | Propriedades da Água . . . . .                                   | 2         |
| 1.2      | Proteína e Água . . . . .  | 10        |
| <b>2</b> | <b>Método</b>  | <b>15</b> |
| 2.1      | Dinâmica Molecular . . . . .                                     | 15        |
| 2.2      | Modelos teóricos para a água . . . . .                           | 17        |
| 2.3      | Potencial de duas escalas . . . . .                              | 19        |
| 2.4      | O pacote GROMACS . . . . .                                       | 23        |
| 2.5      | Resumo do Capítulo . . . . .                                     | 24        |
| <b>3</b> | <b>Proteína TS-Kappa Hidratada</b>                               | <b>25</b> |
| 3.1      | Detalhes da simulação . . . . .                                  | 25        |
| 3.2      | Densidade e Ligações de Hidrogênio da água <i>bulk</i> . . . . . | 27        |
| 3.3      | Densidade da água próxima à proteína . . . . .                   | 28        |
| 3.4      | Ligações de hidrogênio água-água próximo à proteína . . . . .    | 37        |
| 3.5      | Difusão da água próximo à proteína . . . . .                     | 41        |
| 3.6      | Resumo do Capítulo . . . . .                                     | 45        |
| <b>4</b> | <b>Placas paralelas imersas em água</b>                          | <b>46</b> |
| 4.1      | O Modelo . . . . .   | 46        |
| 4.2      | Placas hidrofílicas imersas em água . . . . .                    | 47        |
| 4.3      | Placas hidrofóbicas imersas em água . . . . .                    | 54        |
| 4.4      | Placas heterogêneas imersas em água . . . . .                    | 60        |
| 4.5      | Resumo do capítulo . . . . .                                     | 62        |
| <b>5</b> | <b>Conclusões</b>  | <b>64</b> |
| <b>A</b> | <b>Modelos Clássicos para a água</b>                             | <b>67</b> |
| <b>B</b> | <b>Campos de Forças da Proteína</b>                              | <b>70</b> |
| B.0.1    | Potencial de Lennard-Jones . . . . .                             | 70        |
| B.0.2    | Energia Potencial Eletrostática . . . . .                        | 70        |
| B.0.3    | Potencial Harmônico Linear . . . . .                             | 71        |
| B.0.4    | Potencial Harmônico Angular . . . . .                            | 71        |
| B.0.5    | Potencial Diedros Impróprios . . . . .                           | 71        |

|          |                                      |           |
|----------|--------------------------------------|-----------|
| B.0.6    | Potencial Diedros Próprios . . . . . | 71        |
| B.0.7    | Energia Potencial Total . . . . .    | 72        |
| B.1      | OPLS-AA . . . . .                    | 72        |
| B.2      | Amber ff03W . . . . .                | 73        |
| <b>C</b> | <b>Dinâmica Molecular Clássica</b>   | <b>74</b> |
| C.0.1    | Ensembles . . . . .                  | 75        |
| C.0.2    | Termostato de Nosé-Hoover . . . . .  | 75        |



# Capítulo 1

## Introdução

As proteínas são biomoléculas responsáveis por diversas funções metabólicas de todos os seres vivos. Atuam por exemplo na digestão celular e processos apoptóticos em forma de enzimas, estruturação celular, comunicação celular, entre outras propriedades. Em geral, as diversas funções que as proteínas possuem estão associadas à grande variedade estrutural desse conjunto de biomoléculas, bem como à processos físico-químicos associados a uma sequência específica de aminoácidos que formam a proteína [1].

Diferente de outros heteropolímeros, as proteínas se diferenciam de outras moléculas biológicas pelo fato de possuírem conformações bastante características. Essas estruturas conformacionais são consequências de processos de enrolamento, conhecidos também por *folding* de proteínas. As estruturas das proteínas estão diretamente relacionadas às funções dessas biomoléculas. Na interação com o solvente, por exemplo, a água é capaz de alterar a conformação de uma proteína e, por sua vez, alterar a função metabólica da mesma.

O processo de *folding* possui grande importância na funcionalidade das proteínas, pois, erros nestes processos são causas fundamentais para o surgimento de doenças. Doenças como Alzheimer, fibrose cística e doença da "vaca louca" são exemplos relacionados a uma má formação das proteínas, o que ressalta a importância de seu estudo e a compreensão dos processos que a envolvem.

Para cálculos teóricos, como dinâmica molecular por exemplo, existe uma gama de sequências de proteínas já catalogadas. Atualmente algo da ordem de  $10^6$  proteínas já possuem sua estrutura catalogada no repositório de estruturas proteicas *Protein Data Bank-PDB* [2]. O banco de dados *PDB* armazena estruturas tridimensionais de proteínas, DNA, RNA e demais macromoléculas biológicas. Além de ter essas estruturas catalogadas, o *PDB* ainda armazena as estruturas de ligantes que se unem a essas macromoléculas. Esses ligantes podem ser os DNA's, RNA's e, até, as próprias proteínas, desde que sejam estruturas com baixa massa molecular. As estruturas são obtidas experimentalmente das mais diversas formas e são depositadas nesse repositório diariamente por cientistas de todo o mundo. As técnicas experimentais mais utilizadas são de cristalografia por raios X, X-Ray, e, principalmente, a ressonância magnética nuclear, NMR, sigla em inglês para *Nuclear Magnetic Resonance*. Em cada um desses experimentos, parâmetros como

temperatura e o PH do meio dependem para cada um dos sistemas estudados.

O número de estruturas catalogadas no *PDB* tende a crescer significativamente com o avanço das técnicas experimentais e computacionais, visto que, cada dia mais, técnicas de sequenciamento têm sido desenvolvidas. Um dos métodos mais utilizados para obter essas estruturas de proteínas é o chamado *Swiss-Model*, que mesmo sendo bastante eficiente, ainda depende de um certo grau da identidade sequencial dos aminoácidos da proteína alvo e das proteínas com estruturas já conhecidas.

Ainda de acordo com a importância do mapeamento das proteínas e seus processos, o organismo humano para manter-se em pleno funcionamento, utiliza-se de um sistema termorregulador. Tal sistema mantém a temperatura do corpo em, aproximadamente, 37°C. Essa busca pela manutenção da temperatura do corpo humano é de fundamental importância, pois é possível observar casos de morte celular em temperaturas de, aproximadamente 42°C. Para efeitos de aumento de temperatura, é possível observar a ocorrência da inibição da síntese proteica, além de morte celular [3].

Outra molécula biológica, aparentemente simples, mas que apresenta propriedades fundamentais para a manutenção da vida, é a água.

Considerada um solvente fundamental para a vida a água participa da maioria dos processos biológicos [4], como por exemplo, o transporte, digestão e metabolismo de nutrientes e regulação da temperatura corporal.

Sendo, com isso, um dos mais importantes objetos de estudo, juntamente com o efeito de interação com proteínas, na seção seguinte segue uma breve descrição de suas propriedades e a apresentação de alguns modelos que procuram melhor descrever esse fluido.

## 1.1 Propriedades da Água

A água é uma das principais substâncias encontradas na Terra, sendo de extrema necessidade para a existência de vida. Essa substância está relacionada ao resfriamento, a estabilidade e também ao equilíbrio de temperatura corporal, por exemplo.

Este fluido pertence a um grupo de materiais que apresentam comportamento diferente do usual, quando comparada com demais líquidos. Esse comportamento é dito anômalo. O que faz com que alguma substância seja incluída nesse grupo é que essas apresentem um comportamento não convencional em relação a suas propriedades termodinâmicas, dinâmicas e estruturais, como por exemplo o aumento na densidade da água quando aumenta-se a temperatura do sistema à pressão constante. Outra dessas características é o aumento do coeficiente de difusão quando se aumenta a densidade [5, 6] à pressão constante.

A água é também um dos únicos líquidos que pode ser encontrado nas fases sólida, líquida e gasosa em condições ambientes na natureza [7] e também presente na maioria dos processos biológicos. Um papel importante da água é que ela favorece os processos de eliminação de resíduos metabólicos, através do qual as células podem se comunicar e o oxigênio e nutrientes podem ser trazidos para os nossos tecidos [8].

Uma molécula de água possui uma estrutura bastante simples, sendo constituída basicamente, por dois átomos de hidrogênio e um átomo de oxigênio. Duas moléculas de água podem formar entre si uma ligação que é caracterizada pela interação de hidrogênio com um outro elemento altamente eletronegativo, nesse caso o átomo de oxigênio. Essa ligação é conhecida como ligação de hidrogênio. As moléculas de água se arranjam de tal forma que cada uma pode realizar até quatro ligações de hidrogênio, onde as distâncias e os ângulos são mostrados na figura 1.1 .

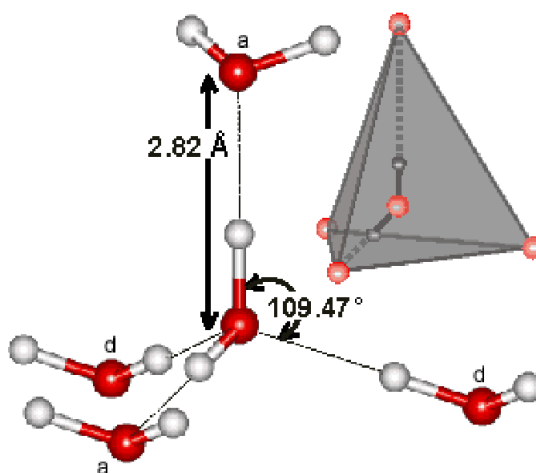


Figura 1.1: Representação da estrutura tetraédrica da água. É possível também observar as ligações de hidrogênio e os ângulos formados entre as moléculas de água [9]

A água possui uma estrutura tetraédrica devido às ligações de hidrogênio entre os átomos de oxigênio de uma molécula e os átomos de hidrogênio de uma molécula vizinha. Os átomos de hidrogênio de duas moléculas compartilham elétrons de sua camada mais externa com o átomo de oxigênio da molécula de água central. Já os átomos de hidrogênio da molécula central compartilham seus elétrons com os átomos de oxigênio das moléculas vizinhas. Ou seja, a molécula de água no centro da figura 1.1 realiza quatro ligações de hidrogênio: duas como aceitadora e duas como doadora.

Com o aumento da temperatura a estrutura tetraédrica se distorce, fazendo com que as ligações de hidrogênio se rompam, ocasionando a aproximação das moléculas vizinhas, gerando, com isso, um comportamento anômalo desse sistema. Porém, esse arranjo estrutural - estrutura tetraédrica - não é a única forma presente na água. Sob determinadas circunstâncias é possível observar aglomerados de moléculas de água, assumindo diferentes geometrias. Essas outras geometrias, podem ser visualizadas na figura 1.2.

Dentre as geometrias que as moléculas de água podem assumir, os tetrâmeros são fundamentais para compreender o comportamento anômalo da água. Essas estruturas apresentam dois arranjos diferentes: um mais denso, onde os tetrâmeros estão mais próximos uns dos outros, interagindo via interação de curto alcance do tipo van der Waals e outro arranjo que é formado por estruturas menos densas, mais

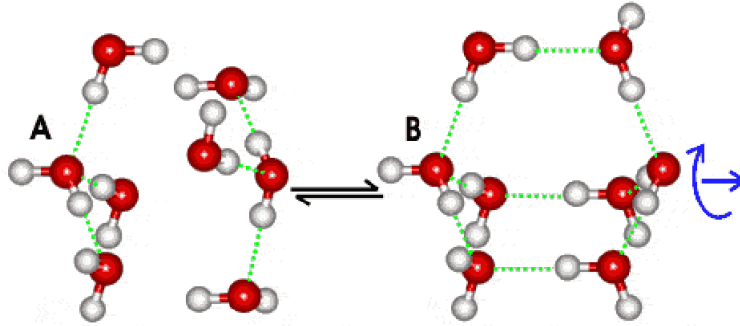


Figura 1.2: Arranjos octaédricos representando dois tipos de estruturas formado por moléculas de água. Em A está representada a estrutura de maior aproximação dos tetrâmeros. Em B está representada a estrutura menos densa [9].

organizadas, com os tetrâmetros mais afastados, com as moléculas interagindo entre si via ligações de hidrogênio.

Essas duas configurações podem ser descritas por um potencial entre tetrâmeros com dois mínimos. Um dos mínimos é um mínimo local responsável por maximizar as interações de van der Waals em detrimento das ligações de hidrogênio. Já o mínimo global é responsável por maximizar as ligações de hidrogênio, priorizando distâncias maiores entre os tetrâmeros. A localização e os valores assumidos para esses mínimos potenciais são de extrema importância para se verificar o comportamento anômalo, a partir do surgimento de um caráter competitivo. O que torna a água bastante atraente comparada com outros líquidos são algumas de suas propriedades, principalmente suas propriedades anômalas.

Essas características da água podem ser representadas por um diagrama de fases bastante informativo, onde é possível observar uma gama de estruturas em coexistência, com propriedades bastante distintas, como mostra a figura 1.3.

É possível observar nesse diagrama três fases bem características: uma estrutura sólida, uma líquida e outra gasosa, separadas por linhas que representam uma transição de fase de primeira ordem. Essas três linhas se unem em um ponto triplo à temperatura de  $T = 273,16K$  e pressão de  $P = 611,69 Pa$ . Para valores maiores de temperatura e pressão, a linha de coexistência vapor-líquido termina em um ponto de temperatura  $T = 674K$  e pressão  $P = 2,30 \times 10^7 Pa$ , sendo esse ponto conhecido como ponto crítico. Já acima desse ponto, representado pela linha tracejada, é possível observar uma transição contínua.

No diagrama da figura 1.3 é também possível observar que para pontos compreendidos em temperaturas menores que  $T = 200K$  a água é encontrada na fase sólida para todas as pressões em análise. Em regiões em torno de  $1GPa$  e em temperaturas próximas de  $T = 200K$ , é possível observar as estruturas conhecidas como gelo II e gelo III. Essa é uma região de bastante interesse devido à sua proximidade com o chamado segundo ponto crítico <sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Ponto crítico hipotético, representado pela sigla *PCLL*, que significa Ponto crítico líquido-

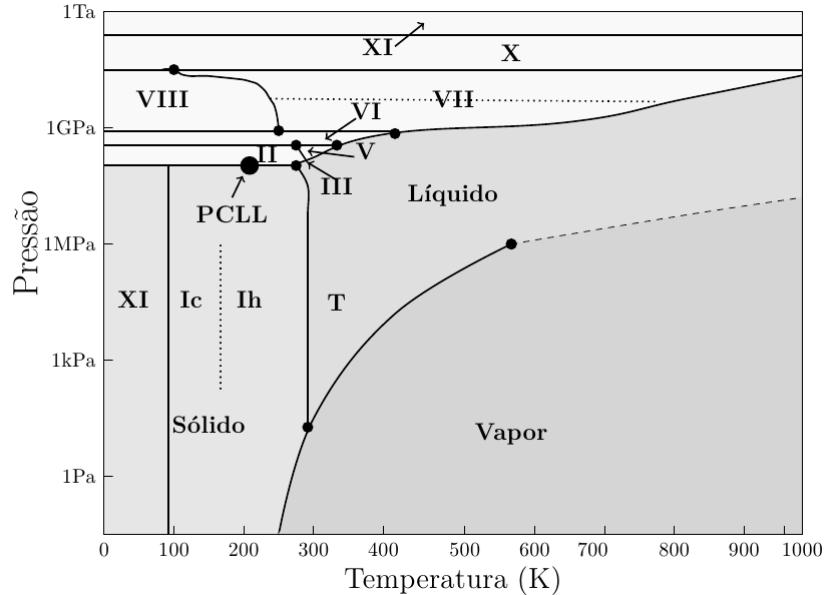


Figura 1.3: Representação qualitativa do diagrama de fases da água pura [9]. Figura extraída de [10]

Esse suposto segundo ponto crítico é de suma importância para a interpretação da origem das propriedades anômalas da água. Acredita-se que a transição de fase entre um líquido de alta densidade (*LAD*) e outro líquido de baixa densidade (*LBD*), que deve ocorrer em uma região metaestável, próxima das estruturas de gelo II e gelo III, possa explicar a origem desse comportamento. A separação entre as fases de *LBD* e *LAD* é representada por uma transição de fase de primeira ordem e terminam no chamado segundo ponto crítico.

O acesso à região do chamado segundo ponto crítico é, ainda, restrita experimentalmente. Assim é de suma importância realizar estudos utilizando simulações computacionais para que o acesso a essa região seja obtido [11, 12], o que possibilita ampliar o conhecimento sobre o comportamento não convencional da água. Esses estudos computacionais têm contribuído para ratificar a existência do segundo ponto crítico, indicando que a provável localização desse está em aproximadamente  $T = 220K$  e  $P = 100Pa$  [13].

De acordo com a figura 1.4 é possível observar que a região onde é proposto existirem as duas fases líquidas metaestáveis está localizada entre a temperatura  $T_x$ , que representa a temperatura de cristalização espontânea, e  $T_H$  que representa a temperatura de cristalização do gelo cúbico. Ao redor dessa região não é possível obter informações acerca da água líquida. Essa região é conhecida como "Terra de Ninguém", porém o seu termo em inglês é o mais popular, e conhecido por *No man's land*.

A partir de um resfriamento abrupto, *quenched*, é possível ter acesso às regiões líquido.

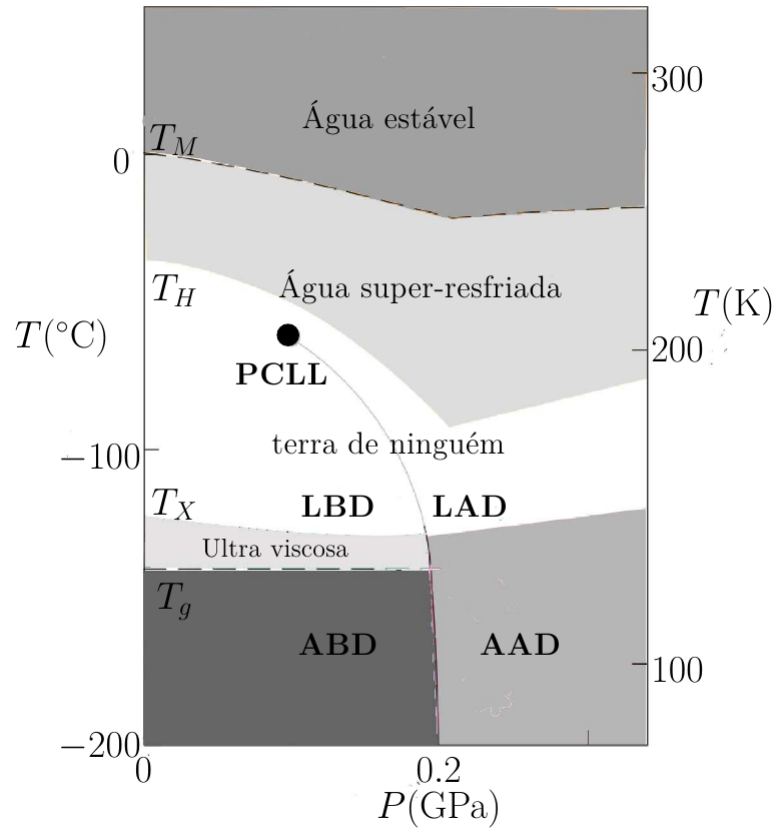


Figura 1.4: Figura que representa a *No man's land*. Também é possível observar a região onde se encontra o chamado segundo ponto crítico [14]. Figura extraída de [10]

com duas fases amorfas metaestáveis, onde o resfriamento abrupto faz com que o sistema não tenha tempo para se cristalizar. Essas fases amorfas (de alta densidade e de baixa densidade) coexistem a partir de uma transição de fase de primeira ordem.

De acordo com a figura 1.4 é possível observar que a fase *AAD*-Amorfa de Alta Densidade se transforma continuamente na fase *LAD*, enquanto que a fase *ABD*-Amorfa de Baixa Densidade, apresenta uma fase viscosa separando essa região da região *LBD*. É possível observar também que a linha de primeira ordem cruza por essas regiões terminando no segundo ponto crítico. A hipótese da presença de duas fases líquidas e de um segundo ponto crítico ajudaria a explicar a existência de outras anomalias da água.

De acordo com o trabalho de Kell et al. [15], ilustrado na figura 1.5 é possível observar que à pressão constante, ao aumentar-se a temperatura de um sistema a densidade da água também aumenta, ocorrendo um máximo em  $4^{\circ}\text{C}$  e uma posterior diminuição. Isso ocorre devido à quebra das ligações de hidrogênio, que faz com que as moléculas de água vizinhas se aproximem, fazendo com que a água a essa temperatura apresente um máximo na densidade, acarretando um comportamento anômalo na densidade. Já para líquidos ditos normais, o esperado é que a densidade

diminua com o aumento da temperatura, quando a pressão é mantida constante. A figura 1.5 representa os dados experimentais para o diagrama densidade *versus* temperatura para a pressão de  $P = 1atm$ . A figura ilustra que entre  $T = 0^{\circ}C$  e  $T = 4^{\circ}C$  a água apresenta um comportamento anômalo na densidade. O ponto  $T = 4^{\circ}C$  é conhecido como temperatura de máxima densidade. A TMD não é a mesma para em todas as situações. Para diferentes pressões este ponto ocorre para diferentes temperaturas.

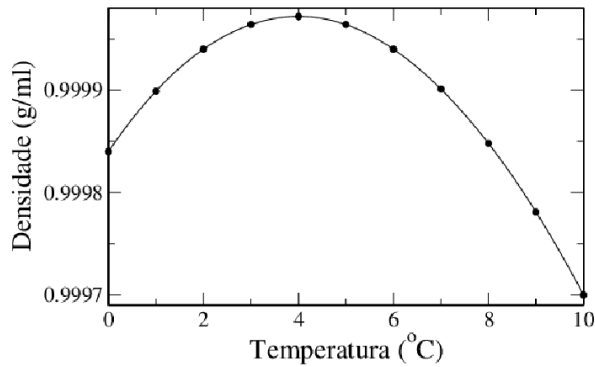


Figura 1.5: Dados experimentais para a água *bulk*. Observa-se o máximo valor na densidade à pressão ambiente.

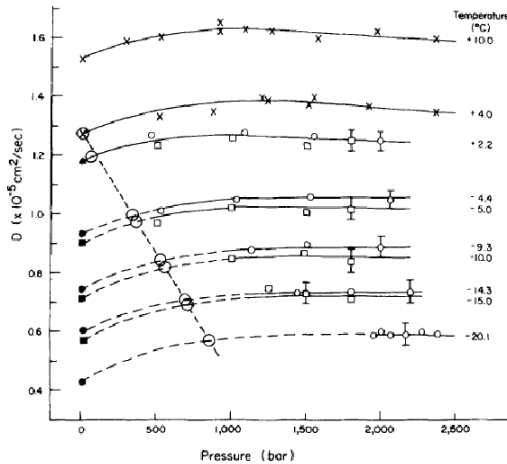


Figura 1.6: Representação dos dados experimentais do comportamento anômalo da difusão da água *bulk* e também da temperatura de máxima densidade, representada pelos círculos não preenchidos [16].

Outra grandeza que apresenta um comportamento anômalo é a difusão da água. Quando aumenta-se a pressão do sistema é possível observar que a difusão aumenta, quando o esperado era que essa diminuísse. É possível observar na figura 1.6, dados experimentais da difusão da água para uma região de pressão e temperatura, onde os círculos não preenchidos representam a temperatura de máxima densidade.

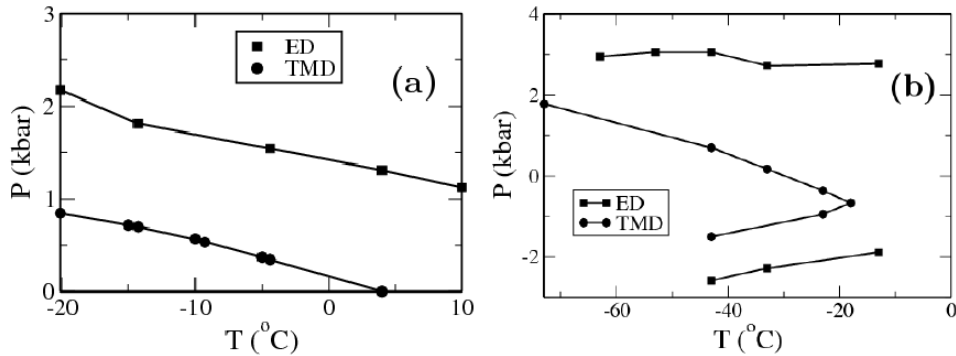


Figura 1.7: Em (a) é mostrado o resultado experimental para a água *bulk*. É possível observar a linha de TMD e o máximo na difusão [18]. Em (b) é apresentado o diagrama  $P$  versus  $T$ . Adaptado de [19].

A figura 1.7 (a) representa os dados experimentais da TMD e a linha correspondente ao máximo na difusão. Para realizar uma análise teórica desse mesmo comportamento, utilizou-se o modelo de água SPC/E [17] (melhor detalhado no apêndice A). A vantagem de utilizar um modelo teórico é que torna-se possível acessar regiões de pressão negativa e, com isso, um mínimo na difusão, que não pode ser acessado experimentalmente [19], de acordo com a figura 1.7 (b). Com o intuito de verificar a validade dos nossos resultados, realizamos uma análise para o modelo SPC/E dos resultados discutidos em 1.7. Esses resultados encontram-se na figura 1.8.

Na figura 1.8 (a) está representado o resultado de  $D$  versus  $\rho$  que reproduz os resultados obtidos por Netz *et. al.* A 1.8 (b) mostra os resultados que apresenta a relação entre os máximos e mínimos na difusão e também para a TMD para o modelo SPC/E. Os resultados presentes na literatura, são satisfatoriamente reproduzidos pelo nosso modelo.

Outra anomalia que a água apresenta é a anomalia na compressibilidade isotérmica, onde é possível observar um mínimo em  $46,5^{\circ}C$  à pressão ambiente, mostrado na figura 1.9 (a). O calor específico é outra grandeza que apresenta um comportamento anômalo, onde é possível observar na figura 1.9 (b) um mínimo a  $36^{\circ}C$ . Para líquidos normais, essas funções respostas apresentam um comportamento monotônico com a temperatura à pressão constante [20].

Um outro enfoque com relação ao comportamento anômalo da água é analisar a ordem estrutural de líquidos. Dessa forma, Errington & Debenedetti [21] propuseram dois parâmetros de ordem para classificar tais estruturas. O parâmetro de ordem translacional  $t$  que é utilizado para medir a tendência do fluido em assumir espaçamentos preferenciais e também o parâmetro de ordem orientacional  $q$ , utilizado para medir a tendência com que corpos vizinhos se ordenam em uma estrutura tetraédrica. É possível observar de acordo com a figura 1.10 (a) que a medida que o líquido é comprimido, esse sistema apresenta um aumento em  $t$ , ou seja, esse comportamento mostra que o sistema está se tornando mais estruturado.



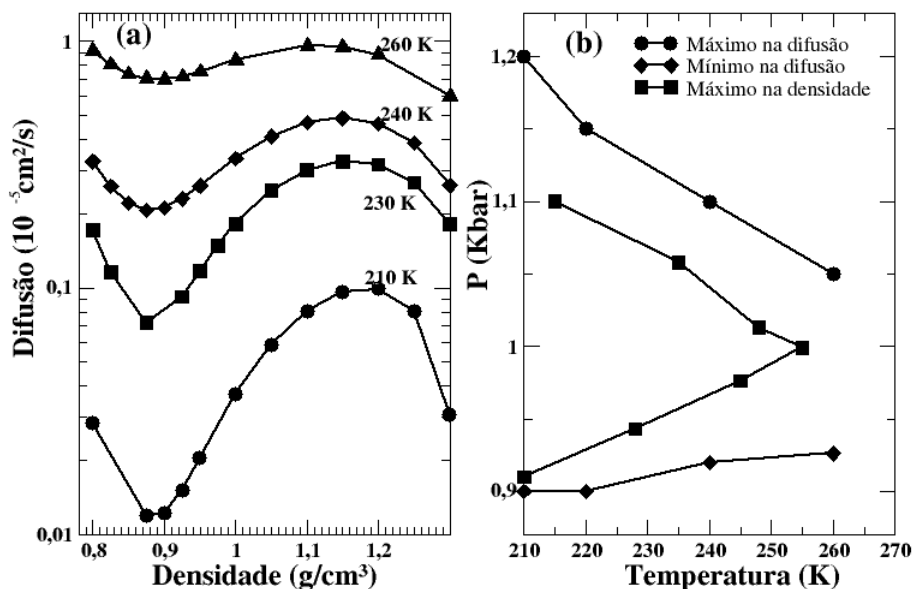


Figura 1.8: Em (a) é mostrado a curva  $D$  versus  $\rho$  para água *bulk* para o modelo SPC/E. Em (b) estão representados os máximos e mínimos na difusão, e também o valor máximo de densidade para diferentes valores de temperatura e pressão.

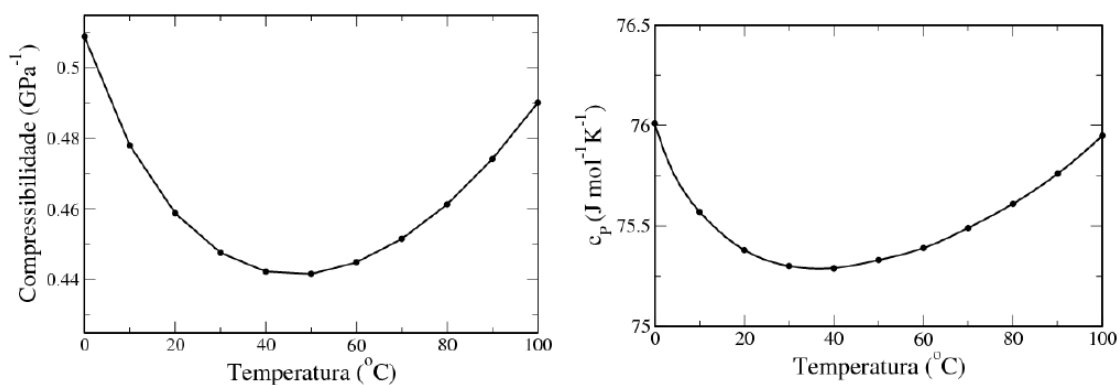


Figura 1.9: Figura representando os dados experimentais da água *bulk*. Em (a) é mostrado o comportamento anômalo da compressibilidade isotérmica. Em (b) é mostrado o comportamento anômalo do calor específico [15].

Já na figura 1.10 (b) é mostrado o comportamento de fluidos anômalos em relação ao parâmetro de ordem translacional, como por exemplo a água e a sílica, onde é possível observar que  $t$  decresce para uma certa região do diagrama de fases ( $P-T$ ) [21, 22].

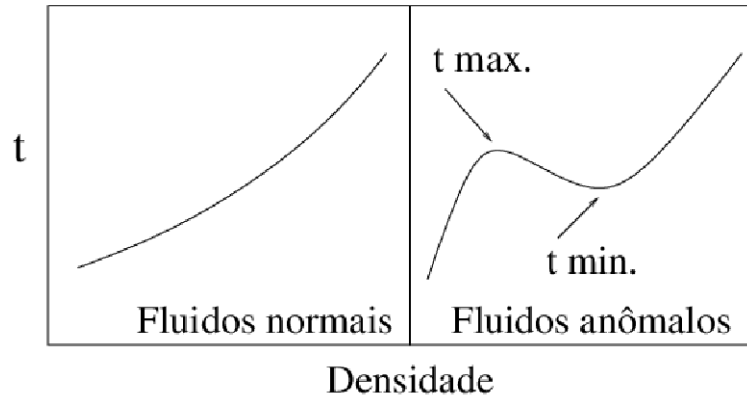


Figura 1.10: Comportamento do parâmetro de ordem translacional em função da densidade. Esse comportamento é verificado para fluidos normais e também para fluidos anômalos [23].

## 1.2 Proteína e Água

As proteínas, bem como as demais macromoléculas do nosso organismo, encontram-se em uma mistura de água e sal. Além de ser importante para a atividade das proteínas, o processo de hidratação dessas biomoléculas é de fundamental importância para sua representação estrutural e também sua atividade [24, 25, 26, 27]. Um outro papel importante da água é que ela está relacionada a alguns processos biológicos, tais como o metabolismo de nutrientes catalizados pelas enzimas [28].

Como auxilia na atividade das proteínas, a água na superfície dessas biomoléculas é fundamental para o seu funcionamento [27, 29, 30]. Em contrapartida, a estrutura tetraédrica da água também altera-se pela presença da proteína, como é possível observar nos experimentos de espectroscopia [31]. As moléculas de água na superfície da proteína se reorganizam e, modificam a estrutura da proteína, enquanto que outras moléculas de água, além de realizarem eventuais ligações com as moléculas da superfície da proteína, realizam também ligações de hidrogênio com outras moléculas de água *bulk* [32].

A proteína hidratada apresenta um número elevado de conformações se comparada à proteína cristalizada. Conformações abertas que necessitam de mais moléculas de água na primeira camada de hidratação, acontecem para temperaturas próximas de onde está localizado o máximo valor de densidade da água. Nessa região, número de ligações de hidrogênio aumenta em relação à sua vizinha de temperatura [33, 34].

O processo de enovelamento das proteínas ocorre também devido as interações entre as moléculas de água e a superfície da mesma. A proteína possui regiões que interagem de maneira distinta com as moléculas de água, que são as regiões hidrofílicas e as regiões hidrofóbicas. Com a finalidade de evitar a água, as regiões hidrofóbicas possuem uma tendência de ocuparem regiões internas à proteína. Com esses aminoácidos procurando afastar-se das moléculas, é formado, assim, o chamado

núcleo do enovelamento [35].

Em suma, a atividade das proteínas parece depender de uma rede bidimensional de água que se forma próximo às vizinhanças dessa biomolécula. Esta rede seria responsável por processos dinâmicos locais e globais [36, 37, 38, 39]. Um dado interessante é que à  $T = 37^\circ C$  as atividades biológicas humanas atingem o seu ápice. É também nessa faixa de temperatura que é necessário ter maiores cuidados, pois, o processo de desnaturação pode vir a ocorrer a partir de efeitos térmicos.

Além da água na superfície da proteína, moléculas de água da primeira camada podem intermediar partes distantes da proteína, fazendo ligações de hidrogênio entre elas, contribuindo de uma forma adicional para o processo de enovelamento [40].

Uma forma de compreender se a rede de moléculas de água na superfície da proteína possui uma conformação diferente da observada no *bulk* é analisando o sistema água+proteína, camada a camada em diferentes regiões da proteína. É possível observar via simulações de dinâmica molecular que na superfície da proteína a densidade de moléculas de água é maior do que no bulk [41].

Uma questão fundamental que os resultados experimentais e as simulações não respondem é se a água na superfície da proteína influencia, além de propriedades dinâmicas, como o enovelamento, propriedades termodinâmicas como, por exemplo, densidade, calor específico e compressibilidade.

Para compreender estas questões é fundamental identificar se o aumento da densidade na superfície da proteína depende apenas da concentração de sítios hidrofóbicos e sítios hidrofílicos ou se é associado exclusivamente ao rompimentos das ligações de hidrogênio entre as moléculas de água. Alguns artigos, como os encontrados nas referências [42, 43] não levaram em consideração o tipo de interação entre a proteína e as moléculas de água, encontrando explicações relacionadas à topografia dessa estrutura.

O principal objetivo desse trabalho é investigar e compreender de que maneira a proteína influencia as propriedades da água, tais como densidade, calor específico e condutividade térmica. Ao contrário do que tem se trabalhado na literatura, vamos levar em consideração as interações hidrofílicas e hidrofóbicas com as moléculas de água. E verificar se o aumento da densidade da água pode estar relacionados a essas interações.

Para melhor compreender o comportamento da água e da proteína, iremos estudar um sistema com essa macromolécula imersa em água. Escolhemos a proteína TS-Kappa para estudarmos a dinâmica desse sistema biológico. A proteína escolhida foi a TS-Kappa (figura 1.11), principalmente pelo fato de ser uma proteína relativamente pequena.

A origem do nome dessa proteína está relacionado ao nome científico do escorpião amarelo brasileiro - animal do qual esta proteína é extraída. O *Tityus serrulatus* possui um conjunto de proteínas, que são representadas pelo sufixo TS. É um polipeptídeo constituído por trinta e cinco aminoácidos ligados a partir de pontes de dissulfetos. A sequência dos aminoácidos dessa proteína é mostrada na figura 1.12, formando ligações de dissulfetos entre as cisteínas  $C_7-C_{28}$ ,  $C_{13}-C_{33}$  e  $C_{17}-C_{35}$ . A TS-Kappa foi quimicamente sintetizada usando o método de fase sólida [44]. Essa proteína foi obtida em sua forma cristalina em 1997 e, com isso, sua estrutura foi

adicionada ao repositório PDB.

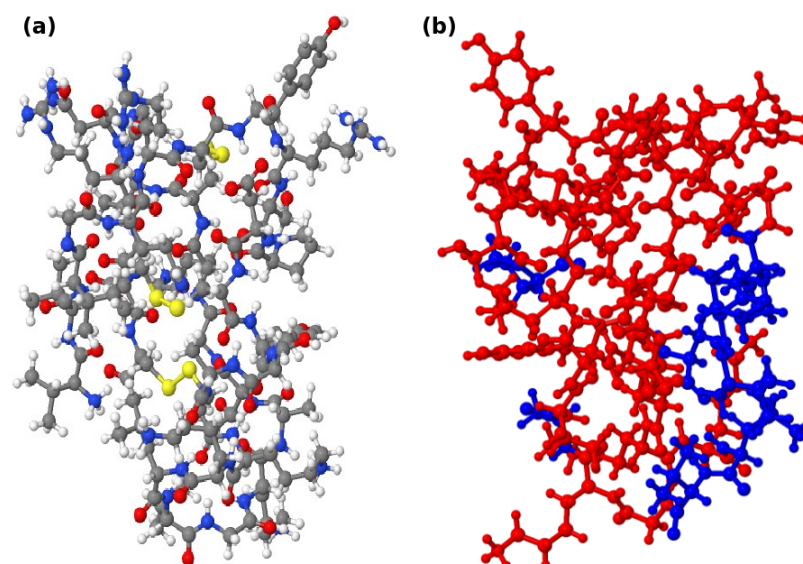


Figura 1.11: Em (a) é apresentada a proteína TS-Kappa extraída do *Protein Data Bank* [2]. Em (b) a proteína é dividida em duas regiões: hidrofílica (azul) e hidrofóbica (vermelho).

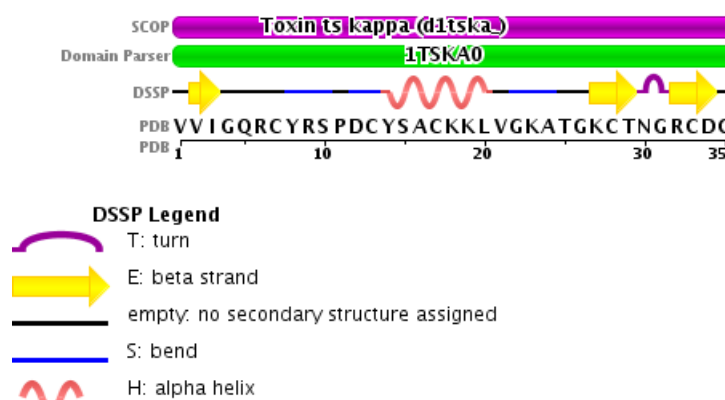


Figura 1.12: Representação esquemática da sequência da proteína TS-Kappa. É possível visualizar também os aminoácidos onde ocorrem as pontes de dissulfetos [2].

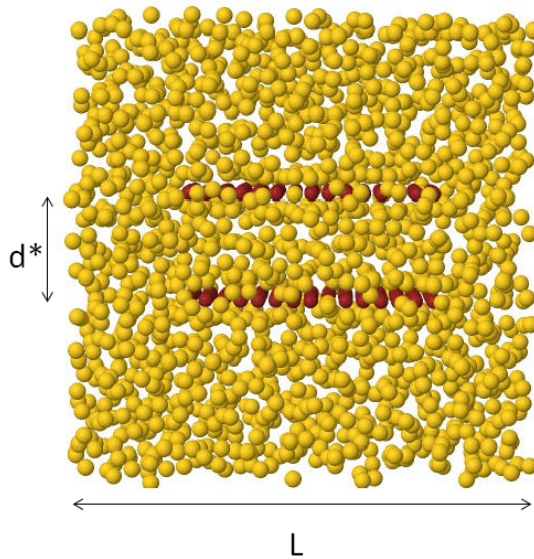


Figura 1.13: Figura representando o sistema com placas paralelas imersa em água. As partículas em amarela representam o fluido tipo água.

Essa proteína é representada de maneira que suas regiões são diferenciadas por aminoácidos hidrofílicos e aminoácidos hidrofóbicos. Na figura 1.11 (b) é possível observar em azul os aminoácidos hidrofílicos e em vermelho os aminoácidos hidrofóbicos da TS-Kappa. Conforme observamos, a proteína possui na maior parte de sua superfície, regiões que interagem hidrofílicamente com a água. Esses aminoácidos são representados por um modelo atomístico, fazendo, assim, com que o sistema apresente uma descrição bastante satisfatória, quando comparado com resultados experimentais [45, 46].

Para compreender se a presença de água ao redor de uma proteína é devida, principalmente, às interações hidrofílicas e hidrofóbicas, desenvolvemos um modelo efetivo para representar uma proteína hidratada.

Procuramos descrever um modelo simples e mais geral do que o sistema estudado anteriormente para a proteína imersa em água. Esse sistema é representado por duas placas paralelas interagindo hidrofílicamente e/ou hidrofobicamente com a água, conforme pode ser visto em 1.13.

As paredes das placas podem ser lisas, onde a interação pode ser realizada de maneira contínua [47, 48], ou também podem ser formadas por paredes rugosas [49, 50, 51], onde as paredes são formadas por partículas [52] estáticas ou não. Nesse trabalho foi estudada a dinâmica para um sistema formado por paredes planas, estáticas, rugosas e neutras, de acordo com a figura 1.13, onde as partículas de diâmetro  $\sigma_P$  representam as partículas do tipo água.

Os demais capítulos dessa tese são estruturados como segue:

No capítulo 2 será apresentada a metodologia utilizada nesse trabalho. Serão resumidas as técnicas de dinâmica molecular clássica, a descrição de modelos atomísticos, como o SPC/E, TIP4P-2005 e o modelo TIP3P [53]. Uma descrição detalhada

desses modelos é apresentada no apêndice A.

No capítulo 3 são apresentados os resultados de densidade da água em um sistema com proteína hidratada, utilizando o pacote GROMACS. Nesse capítulo, avaliamos, principalmente, a densidade da água próximo à superfície da TS-Kappa e o papel das interações dessa proteína nesses valores de densidade.

Com o intuito de se obter resultados para um modelo mínimo de um sistema com proteína hidratada, avaliamos no capítulo 4 a densidade da água em um sistema com placas paralelas imersas em um fluido do tipo-água. Consideramos duas interações dessas placas: hidrofílicas e hidrofóbicas.

No capítulo 5 serão discutidas as conclusões referentes a esses resultados.

Os resultados apresentados nessa tese, estão publicados na referência [54] - resultados referentes ao capítulo 3 - e no artigo submetido à revista *Journal of Condensed Matter*.

# Capítulo 2

## Método

Neste capítulo serão discutidos os métodos computacionais utilizados nesta tese. Dividimos o capítulo em cinco seções, onde a primeira seção apresenta uma descrição sucinta a respeito da dinâmica molecular clássica. Após, descrevemos os potenciais utilizados para a dinâmica em um modelo mínimo representando as interações de uma proteína com a água. Na seção seguinte descrevemos o pacote que foi utilizado para realizar a dinâmica molecular. E, por fim, na última seção é apresentado o resumo deste capítulo.

### 2.1 Dinâmica Molecular

Apresentaremos de maneira sucinta a técnica utilizada aqui - dinâmica molecular clássica. Uma maior descrição sobre potenciais atomísticos, barostatos e termostatos, pode ser encontrada nos Apêndices A e B desse mesmo trabalho.

O estudo teórico computacional empregado nesse trabalho é basicamente constituído da técnica de dinâmica molecular clássica. De maneira a simplificar nossa escrita, nos referiremos sobre tal método utilizando a sigla DM. A DM é uma técnica computacional onde se determina os movimentos das partículas de um sistema conhecendo-se o potencial de interação entre essas partículas. Fazendo a evolução temporal das configurações do sistema que estamos avaliando, a partir das sequências de posições geradas. A partir disso, é possível resolver as equações de movimento e, por fim, obter as grandezas físicas de interesse.

As partículas interagentes em uma dada configuração, movem-se sob influência de potenciais intermoleculares. Conhecendo as posições e as velocidades das partículas num determinado instante  $t_i$ , é possível determinar as forças resultantes sobre cada partícula devido às interações com as demais partículas do sistema. Na sequência determina-se novamente as posições e velocidades em um tempo  $t_i + \delta t$ , gerando um novo conjunto de trajetórias do sistema. Essas propriedades do sistema são calculadas a partir de médias temporais em um determinado intervalo de tempo da ordem de *femto* segundos (*fs*). Esse conjunto de coordenadas do núcleo de cada átomo e sua evolução temporal irá fornecer a trajetória do sistema em questão. Com base nas coordenadas e velocidades é possível calcular quantidades termodinâmicas e dinâmicas para o sistema.

Neste trabalho serão analisados dois sistemas. O primeiro será uma proteína imersa em água (ver figura 1.12). Nessa primeira parte do trabalho, descrita no capítulo 3, os dois modelos de água utilizados foram os modelos SPC/E e o modelo TIP4P-2005, melhor discutidos no Apêndice A. Esses dois modelos atomísticos são considerados modelos clássicos mais ricos em detalhes quando comparados com os potenciais de duas escalas- tratados a seguir.

Sabendo que os efeitos do sistema que estudamos ocorrem em escalas macroscópicas, ou seja, avaliamos a camada de hidratação de água que é formada uma rede de partículas, os efeitos quânticos poderão ser desprezados, nesse caso. A proteína escolhida para compor nosso sistema foi selecionada obtida no site *Protein Data Bank* [2], com o código 1TSK.

As interações entre os átomos que constituem um sistema atomístico, como o caso de uma proteína imersa em água, são otimizadas a partir de um conjunto de interações e parâmetros que são conhecidos também como campos de força. Os campos de força aqui utilizados são melhores descritos no Apêndice B.

A dinâmica molecular é uma técnica que é utilizada para obter propriedades macroscópicas de um sistema, a partir dos constituintes microscópicos desse. Algumas propriedades macroscópicas, como pressão, volume e temperatura podem ser obtidas a partir dessa técnica. Essas e outras propriedades poderão ser feitas a partir da evolução das equações de movimento clássicas:

$$\mathbf{F}_i = m\ddot{\mathbf{r}}_i = -\nabla V(\mathbf{r}_i), \quad (2.1)$$

onde  $\mathbf{F}_i$  a força resultante sobre a  $i$ -ésima partícula,  $m$  é a massa dessa partícula,  $\mathbf{a}_i$  a aceleração e  $V(i)$  é o potencial de interação entre os componentes do sistema, onde  $r_i = \mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2, \mathbf{r}_3, \dots, \mathbf{r}_N$ .

A simulação de Dinâmica Molecular tem início a partir da determinação da posição e da velocidade para o conjunto das  $N$  partículas do sistema.

Para se realizar a integração das equações diferenciais é necessário, antes, "propor" as velocidades iniciais para o conjunto dos átomos do sistema. Isso é feito a partir de diversas formas, porém, nesse trabalho optamos por utilizar a distribuição de Maxwell-Boltzmann, que está descrita na equação 2.2.

$$p(\mathbf{v}) = \left(\frac{2\pi k_B T}{m}\right)^{-\frac{3}{2}} \exp\left(-\frac{m\mathbf{v}^2}{2k_B T}\right) \quad (2.2)$$

onde  $T$  e  $k_B$  são a temperatura do sistema e a constante de Boltzmann, respectivamente. Uma discussão com maiores detalhes é apresentada no Apêndice C.

Dada a configuração inicial, realiza-se a evolução do sistema a partir da equação 2.1 até um dado tempo  $t$  até atingir-se o equilíbrio, situação em que a energia total do sistema oscila em torno de um valor médio de energia.

Podemos compreender a dinâmica como se cada partícula do sistema de  $N$  átomos estivesse sujeita a uma força que é devida aos outros  $N - 1$  átomos. Assim, obtêm-se uma nova força e com isso determina-se uma nova posição e uma nova velocidade desse átomo em um tempo subsequente  $t + \delta t$ . Esse processo se repete para toda a simulação, obtendo novas posições e velocidades até um tempo  $t + \delta t$ .



É possível, com isso, obter diversas informações acerca do sistema em estudo, como a temperatura, pressão, volume, velocidade, e características relacionadas às ligações da molécula (como rompimento e formação de ligações de hidrogênio). Além disso, é possível determinar informações como energias, além de informações estruturais do sistema, como por exemplo: flexibilidade e desnaturação de uma proteína - no nosso caso.

A obtenção da trajetória do sistema só é possível a partir da utilização de potenciais contínuos, pois cada partícula terá sua força modificada a cada movimento próprio ou pelo movimento dos seus vizinhos. Ocorre que a utilização desses potenciais leva a efeitos de problemas com muitos corpos, o que torna impossível a resolução analítica, a partir da integração das equações de Newton, sendo feitas a partir de um método diferencial com elementos finitos, onde se utilizam determinados algoritmos de integração. Dentre os algoritmos existentes na literatura podemos destacar o algoritmo de *Verlet* [55] e também o algoritmo *Velocity – Verlet* [56].

A descrição de um sistema físico pode ser feita a partir de uma função potencial ou então de um campo de forças, melhor descrito no apêndice B. O campo de forças descreve a interação de um sistema de muitas partículas a partir de uma sobreposição de termos que descrevem a interação entre partículas. Para o caso de um sistema de várias partículas é utilizado um conjunto de funções empíricas, determinadas a partir de resultados experimentais, e também de cálculos de primeiros princípios para um sistema com menor número de partículas.

## 2.2 Modelos teóricos para a água

Uma vez descrito na seção anterior alguns tipos de anomalias da água e, mesmo conhecendo bastante a respeito desse assunto, ainda se faz necessário conhecer mais sobre esse comportamento não usual de líquidos estruturados. Para tentar descrever uma forma de potencial entre partículas e a maneira que isso está associado ao comportamento anômalo de um líquido, uma gama de modelos computacionais foram desenvolvidos. Dentre os modelos existentes alguns são os mais conhecidos: SPC, SPC/E, TIP5P, TIP4P-2005, SPC/Fw [17, 57, 58, 59, 60], entre outros. Dois destes modelos, SPC/E e TIP4P-2005 são descritos em mais detalhes no Apêndice A.

Esses modelos são caracterizados principalmente por considerarem as distâncias  $O - H$  e os ângulo  $H - O - H$  fixos, variando entre eles o valor dessa distância, do ângulo e também por levar em consideração a massa do átomo de hidrogênio.

É possível classificar os modelos atomísticos em relação ao número de sítios necessários para a descrição da molécula de água, onde, na maioria das vezes, descrevem de maneira satisfatória suas propriedades.

Porém, a descrição das propriedades da água utilizando esses modelos, demandam um considerável custo computacional para realizar as simulações. Não obstante, nenhum desses modelos pode descrever de maneira quantitativa as propriedades da água em um diagrama de temperatura e pressão bastante amplo. Um exemplo dessa não descrição quantitativa é o modelo SPC/E, onde não é possível observar uma cristalização. Além disso, modelos atomísticos, por incluírem várias propriedades

da água, não permitem determinar que características específicas da água são as responsáveis pelas anomalias. Para contornar estas duas questões, custo computacional e busca pelos mecanismos, formas alternativas de se calcular as propriedades da água têm sido propostas, como por exemplo, a utilização dos chamados potenciais efetivos, ilustrada na figura 2.1.

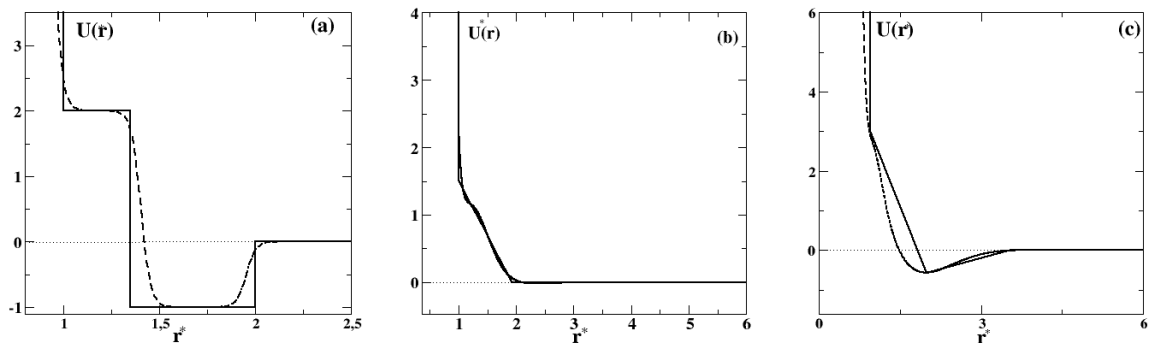


Figura 2.1: Linhas contínuas representam os potenciais discretos e linhas pontilhadas os potenciais contínuos. Em (a) um potencial tipo ombro e os potenciais tipo rampa em (b) sem parte atrativa e (c) com parte atrativa.

A principal característica desses potenciais é representar não mais apenas uma única molécula de água. As interações representadas por estes potenciais não são entre as moléculas de água mas sim entre os tetrâmeros, como os mostrados na figura 1.2. Eles se caracterizam por apresentar duas escalas representadas pelas duas distâncias entre tetrâmeros, mostrado nessa figura. Os potenciais efetivos de duas escalas podem ser divididos em dois tipos: potenciais em que as forças são contínuas e potenciais com forças descontínuas.

A primeira proposta de que os potenciais de duas escalas levariam à presença de duas fases líquidas foi feita por Stell [61] no estudo de um potencial do tipo rampa com parte atrativa (2.1 (c)). Em trabalho posterior Jagla mostrou que este potencial além de dupla criticalidade (transição líquido-gás e líquido-líquido) apresenta as anomalias na densidade, compressibilidade e calor específico [62]. Este potencial tem sido utilizado por Stanley [63] e colaboradores para comprovar outras anomalias da água, inclusive anomalias dinâmicas.

Reconhecendo que a natureza não apresenta forças descontínuas, recentemente versões contínuas da rampa têm sido propostas (figura 2.1, curvas pontilhadas). Estes potenciais apresentam tanto as anomalias na densidade quanto na difusão e um ponto crítico entre duas fases líquidas se o potencial possuir uma parte atrativa. Uma outra versão do potencial de duas escalas com forças descontínuas é o potencial do tipo ombro. Este potencial em três dimensões apresenta duas fases líquidas, mas não anômalas. A sua versão com forças contínuas, no entanto, apresenta tanto as anomalias termodinâmicas e dinâmicas como as duas fases líquidas [64] e várias fases sólidas.

## 2.3 Potencial de duas escalas

Na segunda parte desse trabalho estudamos um modelo mais simples do que o apresentado para a proteína em sua versão atomística. Afim de reproduzir as interações da proteína com a água, utilizamos um modelo mínimo a partir de duas placas paralelas imersas em um fluido do tipo-água, interagindo de maneira hidrofílica e hidrofóbica com essa.

Nessa seção será usado o modelo efetivo para a interação água-água, com um potencial desenvolvido por Oliveira *et al.* [65, 66]. Esse potencial é composto basicamente por um Lennard Jones somado de uma gaussiana, truncado em  $r_c = 3,5$ . O sistema aqui estudado é composto por partículas com diâmetro  $\sigma_a$  interagindo segundo o potencial da equação 2.2.

$$U^*(r) = \frac{U(r)}{\epsilon} = 4 \left[ \left( \frac{\sigma_a}{r} \right)^{12} - \left( \frac{\sigma_a}{r} \right)^6 \right] + a \exp \left[ -\frac{1}{c^2} \left( \frac{r - r_0}{\sigma_a} \right)^2 \right] \quad (2.3)$$

O valor de  $\epsilon$  representa o mínimo para o potencial de Lennard Jones, a gaussiana é centrada em  $r_0$ , sendo  $a$  e  $c$  as altura e largura da mesma.

A fim de ter maior êxito em nossa representação de um modelo mínimo que represente o comportamento anômalo da água, devemos observar a parametrização do potencial, pois, ao se aumentar muito a parte atrativa, corre-se o risco de tornar a região de anomalia inacessível, devido a uma instabilidade [67].

Os parâmetros utilizados nesse trabalho foram testados e validados por outros trabalhos do grupo. A parametrização pode ser vista abaixo:

- $r_0/\sigma_a = 0,7$
- $a = 5$
- $c = 1$

É possível observar na figura 2.2 o perfil do potencial apresentado em 2.2 e destacar que o mesmo possui duas distâncias preferenciais para as partículas: uma em  $r^* = \frac{r}{\sigma_a} \approx 1$  e outra em aproximadamente 2,5.

Os cálculos foram realizados utilizando o *ensemble* NVT, ou seja, número de partícula, volume e temperatura são mantidos constantes. A fim de se manter fixa a temperatura, utilizou-se o termostato de Nosé-Hoover [68], com parâmetro de acoplamento  $Q = 2$ . Já o raio de corte da interação entre as partículas nas simulações foi de  $r_c = 3,5$ , onde valores para raios de corte maiores foram testados e nenhuma mudança significativa foi observada.

Em nosso sistema estamos trabalhando com unidades reduzidas, onde essas podem ser melhor compreendidas em 2.7.

$$\tau^* = \frac{\tau(\epsilon/m)^{1/2}}{\sigma_a}, \quad (2.4)$$

$$d^* = \frac{d}{\sigma_a}, \quad (2.5)$$

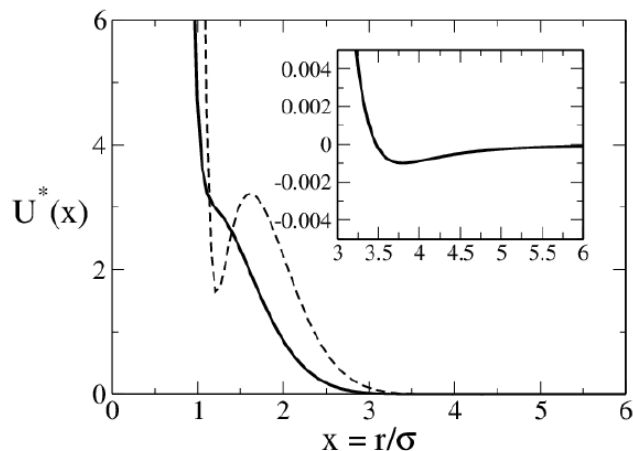


Figura 2.2: A linha contínua está representando o potencial contínuo isotrópico de duas escalas, enquanto a linha tracejada representa a força de interação entre as partículas.

$$T^* = \frac{k_B T}{\epsilon}, \quad (2.6)$$

$$\rho^* = \rho \sigma_a^3. \quad (2.7)$$

Maiores detalhes sobre o potencial apresentado na equação 2.2 pode ser encontrado no Apêndice C.

A confinar a água algumas de suas propriedades são modificadas em relação aos sistemas onde a água não encontra-se confinada. Esse fenômeno já foi observado em modelo de água atomísticos bastante reconhecidos na literatura, tais como o modelo SPC/E [17] e o modelo TIP5P [69], além de resultados experimentais [70, 71].

Várias geometrias confinantes têm sido estudadas, como por exemplo nanotubos de carbono [72, 73], meios porosos [10, 75] e também sistema de placas paralelas [76].

Nossa aproximação de sistema confinado escolhida foi um sistema de placas paralelas imersas em um fluido do tipo-água. Nesse sistema a água encontra-se em dois diferentes tipos de região, uma região em que encontra-se confinada e outra região em que não está na parte confinante do sistema. Os sistemas de paredes confinantes podem ser feitos a partir de placas paralelas infinitas [77] e também por placas paralelas imersas em água [78, 79].

Dos vários trabalhos encontrados na literatura, verificamos alguns em que as placas podem ser lisas [47, 48] e também outros trabalhos em que as placas podem ser rugosas [50, 51]. Faremos neste trabalho uma análise para paredes rugosas. Embora as partículas dessas paredes rugosas possam ser dinâmicas ou estáticas, escolhemos para o nosso estudo um sistema composto por partículas fixas, ou seja, partículas estáticas.

O sistema de placas paralelas imersas em um fluido do tipo água está representado esquematicamente na figura 1.14, no capítulo 1. Nesse esquema as esferas de diâmetro  $\sigma_a$  representam as partículas do tipo-água, enquanto que as esferas de

diâmetro  $\sigma_p$  representam as partículas formadoras das placas. A interação entre a parede formadoras das placas e as partículas do tipo-água acontece de duas formas: uma atrativa (via potencial SAT) e outra repulsiva (via potencial WCA; Weeks, Chander e Andersen [80]). A forma repulsiva desse potencial, está expressa em 2.8.

$$U = \begin{cases} U_{LJ}(r_{ij}) - U_{LJ}(r_{cp}), & r \leq r_{cp} \\ 0, & r > r_{cp} \end{cases} \quad (2.8)$$

onde  $U_{LJ} = 4\epsilon \left(\frac{\sigma_{pa}}{r}\right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{pa}}{r}\right)^6$  e  $r_{cp} = 2^{1/6}\sigma_{pa}$ .

Usando a regra de combinação de Lorentz-Berthelot [81] quando dois diferentes átomos interagem é possível escrever  $\sigma_{pa} = \frac{(\sigma_p + \sigma_a)}{2}$ .

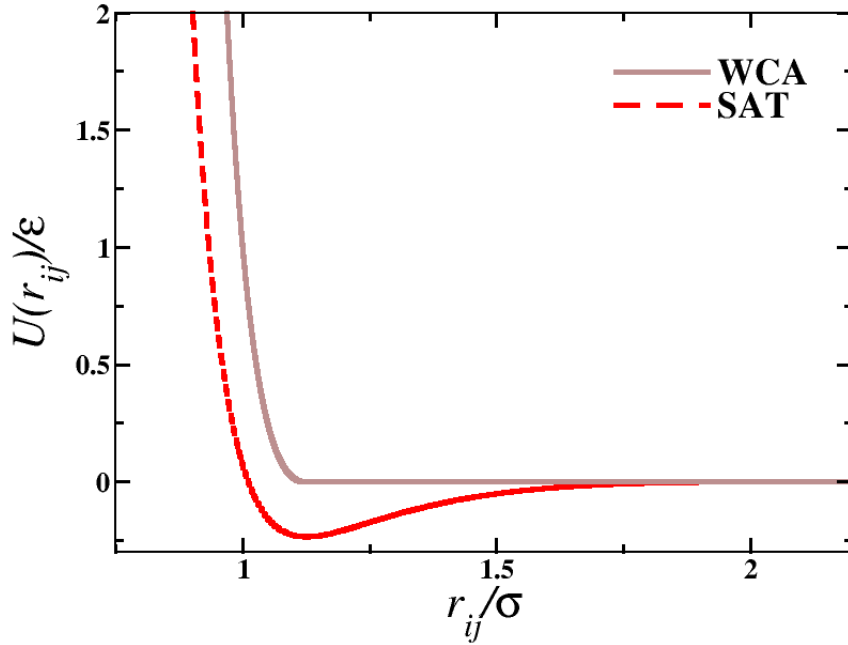


Figura 2.3: Representação dos potenciais de interação partícula-parede. A linha sólida representa o potencial repulsivo (WCA) e a linha tracejada representa o potencial atrativo (SAT).

Nesse trabalho foi considerado  $\sigma_p = \sigma_a = 1$ , assim  $\sigma_{pa} = 1$ .

Já a interação hidrofílica entre a placa e a água é medida via potencial que denominamos SAT (*strong attractive*), que foi definido em [82] e pode ser expresso conforme apresentado em 2.9.

$$U_{SAT}^* = \frac{U_{SAT}}{\epsilon} = \begin{cases} D_1[(\sigma/r)^{12} - (\sigma/r)^6] + D_2(r/\sigma) - \epsilon_5, & r \leq r_{c5} \\ 0, & r > r_{c5} \end{cases} \quad (2.9)$$

onde  $r_{c5} = 2,0$  e  $\epsilon_5 = D_1[(\sigma/r_{c5})^{12} - (\sigma/r_{c5})^6] + D_2(r_{c5}/\sigma)$ . Já os parâmetros  $D_1$  e  $D_2$  são iguais a 1, 2 e 0,0545, respectivamente.

Nas direções  $x$  e  $y$  existem condições periódicas de contorno, enquanto que a direção  $z^*$  é a direção onde se encontram as placas paralelas. As placas possuem

um tamanho  $L^*$  nas direções  $x$  e  $y$ , e na direção  $z^*$  o afastamento entre as placas é representado pela letra  $d^*$ . A partir disso, se faz necessário calcular as grandezas de interesse para a nossa proposta.

Para analisar a estrutura do sistema, será usada a função de distribuição radial. Como o confinamento leva a uma quebra de simetria, as correlações são separadas em contribuições laterais e perpendiculares. Como a rede de água ocorre no plano da proteína, iremos analisar o comportamento da  $g(r)$  lateral, calculada nas regiões que se está interessado, neste caso, as camadas de água em contato com a parede confinante e também outras camadas da região fora do confinamento. A  $g(r)$  lateral pode então ser escrita como  $g_{||}(r_{||})$  e está definida em 2.10.

$$g_{||}(r_{||}) = \frac{1}{\rho^2 V} \sum \delta(r - r_{ij}) [\theta(|z_i - z_j|) - \theta(|z_i - z_j| - \delta_z)] \quad (2.10)$$

Para calcular a  $g_{||}(r_{||})$  utiliza-se um método que considera uma camada de espessura  $\delta z$ , onde a limitação é realizada pelo uso da função de Heaviside  $\theta(x)$ , que delimita a soma das partículas em  $\delta z$ . Levando-se em consideração a maior parte das partículas em cada camada, escolhemos  $\delta z = 1$  para calcularmos a  $g_{||}(r_{||})$ . De acordo com a geometria do problema e também pelo fato das condições de contorno serem periódicas, o volume de normalização pode ser considerado cilíndrico [83].

O movimento de partículas entre uma camada e outra é considerando pequeno, o que permite considerar a densidade de cada camada como sendo, praticamente, homogênea e assim calculá-la levando em consideração um número médio de partículas por camada  $N_m$ .

Para o sistema de placas paralelas imersas em água usou-se a técnica de dinâmica molecular clássica, que é basicamente a resolução das equações de movimento para um conjunto de partículas.

Em relação aos detalhes técnicos da simulação, o *time step* utilizado foi de  $\Delta\tau^* = 2 \times 10^{-3}$ . Foram utilizados  $2 \times 10^6$  e  $4 \times 10^6$  passos de simulação para a equilibração do sistema e para os cálculos da média, respectivamente, obtidas com o uso de 50 amostras.

Como configuração inicial do sistema utilizamos três diferentes distâncias entre as placas,  $d^* = 3, 0, 6, 0$  e  $10, 0$ . Em todos os casos foram utilizadas duas placas paralelas, cada uma de largura de 1515 diâmetros de partículas. E também um total de 1.700 partículas do tipo água. A fim de variar a densidade do sistema, foram variados o tamanho da caixa de simulação, mantendo-se fixos o tamanho da placa e o número de partículas do tipo água. Assim, nesse trabalho utilizaram-se três diferentes tamanhos de caixa de simulação:  $L^* = 24, 0$ ,  $L^* = 26, 0$  e  $L^* = 28, 0$ .

Uma maneira que foi encontrada para determinar a distribuição das partículas do tipo água foi a determinação do perfil de densidade transversal, que mostra como as partículas estão distribuídas na direção  $z^*$  das placas.

Esse cálculo é feito através de histogramas na direção  $z$ . Consideramos a direção  $z^*$  de tamanho  $L/N_{bin}$ , sendo  $N_{bin}$  o número de caixas que formarão o histograma. Com o sistema equilibrado, calcula-se o número partículas para cada passo de tempo, divide-se pelo volume de cada caixa do histograma e obtém-se uma média temporal.

A partir da equação 2.11 é possível calcular o número total de partículas do sistema e, ainda, o número total de partículas por camada. Isso é possível variando o limite de integração.

$$N = L^2 \int_0^z \rho(z) dz \quad (2.11)$$

## 2.4 O pacote GROMACS

A simulação por dinâmica molecular foi realizada com o pacote GROMACS [84]. Esse pacote pode ser obtido de maneira gratuita e é utilizado, principalmente, na resolução dos mais diversos sistemas com biomoléculas.

As etapas de instalação do programa pode ser feita utilizando tanto o sistema operacional Windows como o sistema Linux. No nosso caso, o sistema operacional utilizado foi o Linux, sendo o Ubuntu 14.04 a distribuição. A versão utilizada para a implementação da dinâmica molecular foi o GROMACS 4.5.5.

O GROMACS oferece, também, alguns pacotes que auxiliam na obtenção de alguns resultados após a realização da dinâmica molecular. Para o cálculo da  $g_{oo}(r)$  utilizamos o  $g_{rdf}$ . Já para a determinação da região que queremos selecionar a camada de hidratação de água, utilizamos o  $g_{select}$ . O coeficiente de difusão foi obtido a partir do  $g_{msd}$ .

O coeficiente de difusão é calculado a partir da relação de Einstein no  $g_{msd}$ , que pode ser escrita como em 2.12.

$$\langle \Delta r^2(t) \rangle = 6Dt \quad (2.12)$$

onde  $\langle \Delta r^2(t) \rangle$  representa o deslocamento médio quadrático de cada partícula do sistema para diferentes instantes de tempo.

## 2.5 Resumo do Capítulo

Nesse capítulo abordamos a metodologia empregada nesse trabalho. Na primeira parte do capítulo, discutimos os conceitos fundamentais da dinâmica molecular clássica. Em seguida, discutimos os potenciais de duas escalas utilizados nessa tese, bem como a representação de cada um deles. Abordamos também o comportamento de um fluido do tipo-água em um sistema mínimo, como é o caso de placas paralelas imersas em água, e definimos como cada grandeza escolhida para avaliar esse sistema foi calculada. Informações adicionais sobre os potenciais, sobre a dinâmica molecular clássica e também sobre os campos de forças utilizados para os modelos atomísticos podem ser obtidos nos apêndices dessa tese.



# Capítulo 3

## Proteína TS-Kappa Hidratada

Nesse capítulo serão apresentados os resultados obtidos para a densidade da água e o número de ligações de hidrogênio, a partir das simulações com a proteína TS-Kappa hidratada.

### 3.1 Detalhes da simulação

Nessa tese, os modelos de água utilizados para esse processo foram os modelos SPC/E [17] e o TIP4P-2005 [69]. Inicialmente, analisamos a densidade da água para os dois sistemas *bulk* e depois investigamos os efeitos na densidade da água quando a proteína está imersa na mesma. Com a finalidade de compreender os efeitos de uma biomolécula com regiões hidrofílicas e hidrofóbicas, investigamos o comportamento da água numa região próxima à proteína.

Para os dois modelos de água utilizados no nosso trabalho, calculamos a dinâmica molecular para o sistema *bulk* para um número total  $N$  de 500 moléculas de água. Realizamos o cálculo do *ensemble NPT* à pressão de  $P = 1atm$ . O tempo total de simulação utilizado foi de  $6ns$  e o *timestep* de  $dt = 0,002ps$ . O intervalo de temperatura analisada foi de  $T = 180K$  a  $T = 330K$  para o modelo SPC/E e de  $T = 180K$  a  $T = 340K$  para o modelo TIP4P-2005.

Quando a proteína está imersa em água, é definida uma distância da superfície da proteína em relação à extremidade da caixa de simulação. Nesse trabalho foi utilizada uma distância de  $1,2nm$ . Depois disso, o pacote *genbox* preenche o restante da caixa de simulação com moléculas de água. Para o modelo SPC/E o número total de moléculas de água é de 3946 e para o modelo TIP4P-2005 3916 moléculas de água foram utilizadas. O tempo total de simulação é de  $10ns$ , o *timestep* utilizado foi de  $dt = 0,002ps$ .

A proteína escolhida nesse trabalho foi a TS-Kappa e está representada na figura 3.1. A escolha por essa proteína se deve ao fato de ser uma biomolécula de pequena dimensões, ou seja, é composta por trinta e cinco aminoácidos em sua estrutura. A TS-Kappa é uma toxina oriunda do veneno do escorpião amarelo brasileiro, cujo nome é *Tityus Serrulatus*. Dos trinta e cinco aminoácidos, 20% são de estruturas helicais, 1 hélice de 7 resíduos, e 22% de folhas beta, 3 folhas com 8 resíduos. A

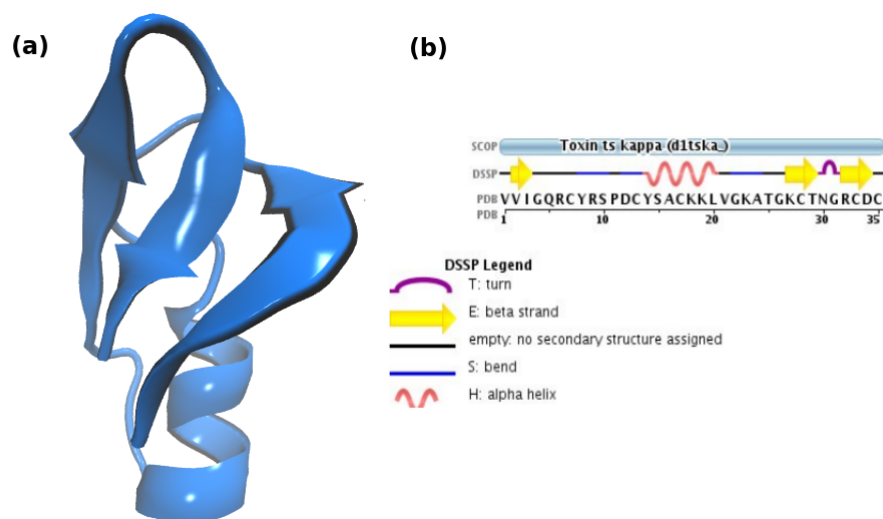


Figura 3.1: Em (a) está representada em *cartoon* a TS-Kappa. Em (b) temos as sequências de aminoácidos da proteína. As setas representam as folhas beta, enquanto que o símbolo helicoidal representa a alfa-hélice.

estabilidade dessa proteína se deve, também, às três pontes de dissulfeto realizadas entre os aminoácidos Cisteína.

A sequência de aminoácidos da TS-Kappa pode ser esquematicamente representado por: **VVIGQRCYRSPDCYSACKKLVGKATGKCTNGRCDC** e podem ser melhor observados na figura 3.1. Nas figuras 3.1 (a) e 3.1 (b) as setas indicam as folhas beta e o símbolo helicoidal representa a alfa-hélice. As pontes de dissulfetos são realizadas pelas Cisteínas:  $C_7-C_{28}$ ,  $C_{13}-C_{33}$  e  $C_{17}-C_{35}$ . Um trabalho desenvolvido para estudar a estabilidade da TS-Kappa, a partir das pontes de dissulfeto, foi realizado por Soares *et al* e pode ser verificado na referência [85]. Foi verificado nesse trabalho que essas ligações S-S são fundamentais para a estabilidade da proteína, principalmente em casos de altos valores de temperatura. Além de estar associada à estabilidade, essas ligações S-S estão intimamente relacionadas ao processo de *foldind* de proteínas. Com o intuito de garantir a estabilidade dessas proteínas, as ligações S-S podem ser formadas durante um processo de *foldind* [86].

A dinâmica molecular foi implementada no pacote GROMACS e, com o objetivo de manter a temperatura e a pressão constantes, utilizamos o termostato de Nosé-Hoover [68] e o barostato de Parrinello-Rahman [87], respectivamente.

## 3.2 Densidade e Ligações de Hidrogênio da água *bulk*

Nessa seção serão apresentados os resultados referentes a densidade e o número de ligações das moléculas de água.

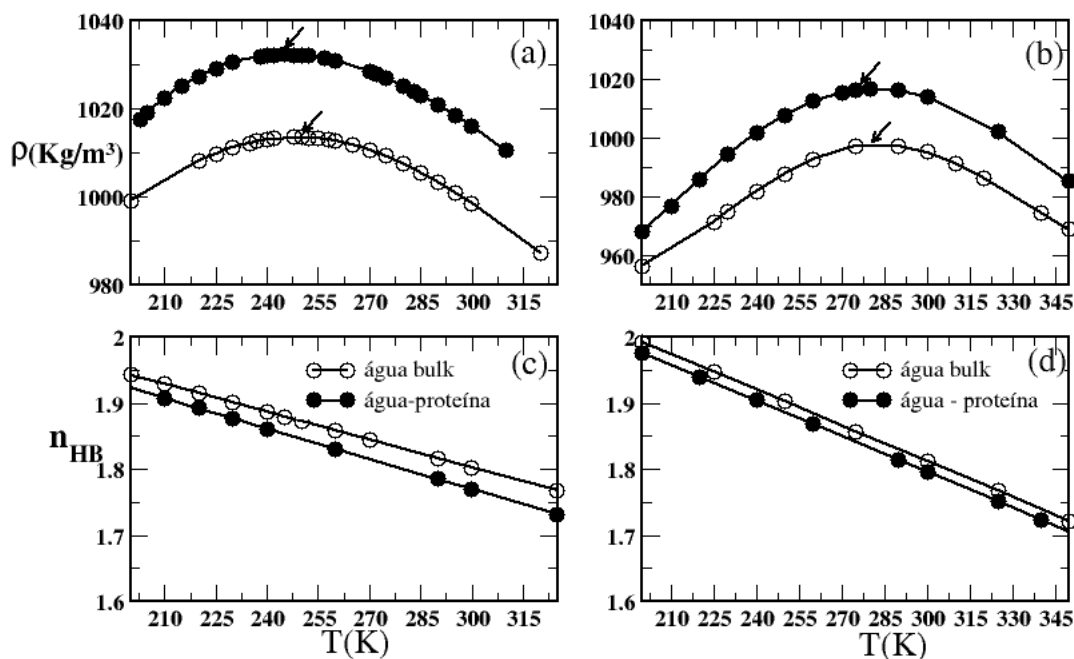


Figura 3.2: Densidade *versus* temperatura para a água *bulk* (círculos abertos) e para o sistema com proteína (círculos fechados). Em (a) estão representados os resultados para o modelo SPC/E e em (b) os resultados para o modelo TIP4P-2005. Número de ligações de hidrogênio água-água por molécula de água *versus* temperatura para o sistema *bulk* (círculos abertos) e para o sistema com proteína (círculos fechados). Em (c) estão representados os resultados para o modelo SPC/E e em (d) os resultados para o modelo TIP4P-2005. As setas em (a) e (b) indicam a TMD para cada um desses modelos.

Na figura 3.2 (a) está representada a densidade da água *versus* temperatura à pressão de  $P = 1atm$  para o modelo SPC/E. Os círculos abertos representam o comportamento do sistema *bulk* para esse modelo, enquanto que os círculos fechados representam o sistema com a proteína, ainda para o modelo SPC/E. O modelo SPC/E, sem proteína, apresenta um comportamento no qual a densidade da água aumenta com o aumento da temperatura. Para o sistema *bulk* o máximo na densidade é encontrado na região de  $250K$  na pressão de  $P = 1atm$ . O máximo valor de

densidade para experimentos ocorre em  $T = 277k$  [16]. A diferença entre o resultado do modelo SPC/E e a água experimental decorre da parametrização que torna a água nesse modelo muito estruturada.

Nessa mesma figura - 3.2(a) - também é mostrada a TMD para o sistema com a proteína hidratada. Nesse caso o máximo na densidade está em  $T = 245K$ , ou seja,  $5K$  abaixo do que foi encontrado para o sistema *bulk*. Esse efeito de diminuição no valor de máxima densidade é bastante comum e foi encontrado em diversos outros trabalhos como é o caso de água confinada por paredes hidrofóbicas [74, 77, 88].

Com a finalidade de compreender melhor as propriedades da água em um sistema com proteínas, avaliamos as mesmas configurações usadas no estudo do modelo SPC/E, porém agora para o modelo TIP4P-2005. É possível observar em 3.2 (b) o mesmo comportamento observado no modelo SPC/E, ou seja, o sistema apresenta um máximo valor de densidade. O sistema *bulk* do modelo TIP4P-2005 (círculos abertos) exhibe um máximo na densidade na região em torno de  $T = 280K$  para a pressão de  $P = 1atm$ , enquanto que a TMD para o sistema com a proteína hidratada (círculos fechados) se encontra em torno da temperatura de  $T = 275K$ , nos dois casos para a pressão de  $P = 1atm$ . O máximo valor encontrado para o modelo TIP4P-2005 fornece uma boa concordância com os resultados experimentais.

Com a água SPC/E os valores encontrados para a densidade do sistema são maiores dos que os valores encontrados para o sistema com água TIP4P-2005, tanto para o caso *bulk* como para o caso com a proteína hidratada. O modelo SPC/E apresenta uma estrutura mais compacta do que o modelo TIP4P-2005, o que faz com que a densidade no primeiro seja maior do que no segundo.

Nas figuras 3.2 (c) e 3.2 (d) são apresentados os resultados do número de ligações de hidrogênio entre as moléculas de água, por molécula, *versus* temperatura para o sistema *bulk* (círculos abertos) e para o sistema com a proteína hidratada (círculos fechados), para os modelos SPC/E e TIP4P-2005, respectivamente. Os dois gráficos mostram que o número de ligações de hidrogênio diminui conforme a temperatura aumenta. Para os dois modelos estudados, o número de ligações de hidrogênio água-água é maior no sistema *bulk* do que no sistema água+proteína. Podemos compreender esse fenômeno como sendo uma consequência da presença da proteína no sistema. Enquanto que no sistema *bulk* a água só realiza ligações de hidrogênio com outras moléculas de água, no sistema com a proteína hidratada a mesma realiza ligações com a proteína, o que faz com que o número de ligações de hidrogênio entre as moléculas de água seja menor do que no sistema *bulk*.

### 3.3 Densidade da água próxima à proteína

A interação água e proteína também pode explicar o fato da densidade do sistema com proteína ser maior do que a densidade no *bulk*. Isso se deve ao fato de a proteína rompe as ligações de hidrogênio água-água, o que faz com que mais moléculas de água fiquem mais próximas uma das outras, consequentemente, aumentando a densidade nesse sistema. Esse resultado está de acordo com dados experimentais já observados em água confinada em sistemas hidrofílicos e sistemas hidrofóbicos [78, 79].

Com o propósito de melhor caracterizar a estrutura da água no sistema com a proteína, calculamos a função de distribuição radial entre os oxigênios das moléculas de água, representado por  $g_{oo}(r)$ . Apresentamos na figura 3.3 (a) os resultados observados para o modelo SPC/E e em 3.3 (b) os resultados da  $g_{oo}(r)$  para o modelo TIP4P-2005.

A figura 3.3 mostra que para todas as temperaturas analisadas a  $g_{oo}$  apresenta um mínimo na região em torno de  $r = 0,33$  nm. Esse resultado é compatível com a camada de hidratação obtidas experimentalmente [90] e observadas em simulação [42]. Nossa ideia ao avaliar a  $g_{oo}(r)$  entre as moléculas de água, era observar se o primeiro mínimo dessa função modificava-se com a variação de temperatura. A localização do mínimo não varia conforme a temperatura é modificada. Como o primeiro mínimo da  $g_{oo}(r)$  indica a localização da primeira esfera de coordenação da água, porém, essa distância será usada como camada de hidratação da proteína. O fato de sua localização não variar com a temperatura, permite que usemos essa distância para todos os casos analisados nesse trabalho.

A única alteração em relação às diferenças de temperatura acontece quando aumenta-se a temperatura do sistema, pois a altura do primeiro pico da  $g_{oo}(r)$  diminui. Concluímos com isso que a primeira camada de hidratação para a água é a região de até  $r = 0,33$ nm. O mínimo para  $g_{oo}(r)$  no modelo TIP4P-2005 nessa mesma faixa de temperaturas também encontra-se em 0,33nm.

Foi possível observar na figura 3.2 que a densidade da água é maior no sistema proteína+água do que no sistema *bulk*. Este gráfico não nos mostra como é a distribuição da água ao longo da proteína. Como é o comportamento da água próxima à superfície da TS-Kappa? Para responder a essa pergunta, dividimos a superfície da proteína em trinta e cinco diferentes regiões. Essas regiões coincidem, propositalmente, com o número de aminoácidos da proteína estudada. A densidade de cada uma destas regiões será calculada como uma função da temperatura. Este método, de avaliar a densidade de regiões próximas à superfície da proteína, foi introduzido por Kuffel *et al* [43, 93]. Porém, no nosso caso, diferentemente da análise de Kuffel *et al*, cada uma dessas regiões representa um único aminoácido. Com isso, analisamos a densidade da água próxima a cada um dos aminoácidos da proteína TS-Kappa.

Para definirmos a área acessível ao solvente de cada aminoácido, utilizamos o pacote  $g_{sas}$  do GROMACS que realiza essa função. A área de cada aminoácido varia entre  $0,8$   $nm^2$  até  $1,2$   $nm^2$ , variando de acordo com a temperatura do sistema. Determinando a área acessível ao solvente de cada um desses aminoácidos, se fez necessário definir uma distância limite da superfície da proteína para determinarmos o número de moléculas de água próximas a cada um desses aminoácidos.

Para corresponder à primeira camada de hidratação, usamos a distância de  $r = 0,33$ nm como limite da superfície da proteína, distância essa que corresponde ao primeiro mínimo da  $g_{oo}(r)$  da água *bulk*, ou seja, a primeira camada de hidratação do sistema de água pura. Em vários trabalhos encontrados na literatura o valor da camada de hidratação varia de acordo com o tipo de superfície analisada. No nosso trabalho a primeira camada de hidratação possui o mesmo valor tanto para a região hidrofílica quanto para a região hidrofóbica e vale  $r = 0,33$ nm.

A figura 3.4 representa o esquema que escolhemos para delimitar a região de

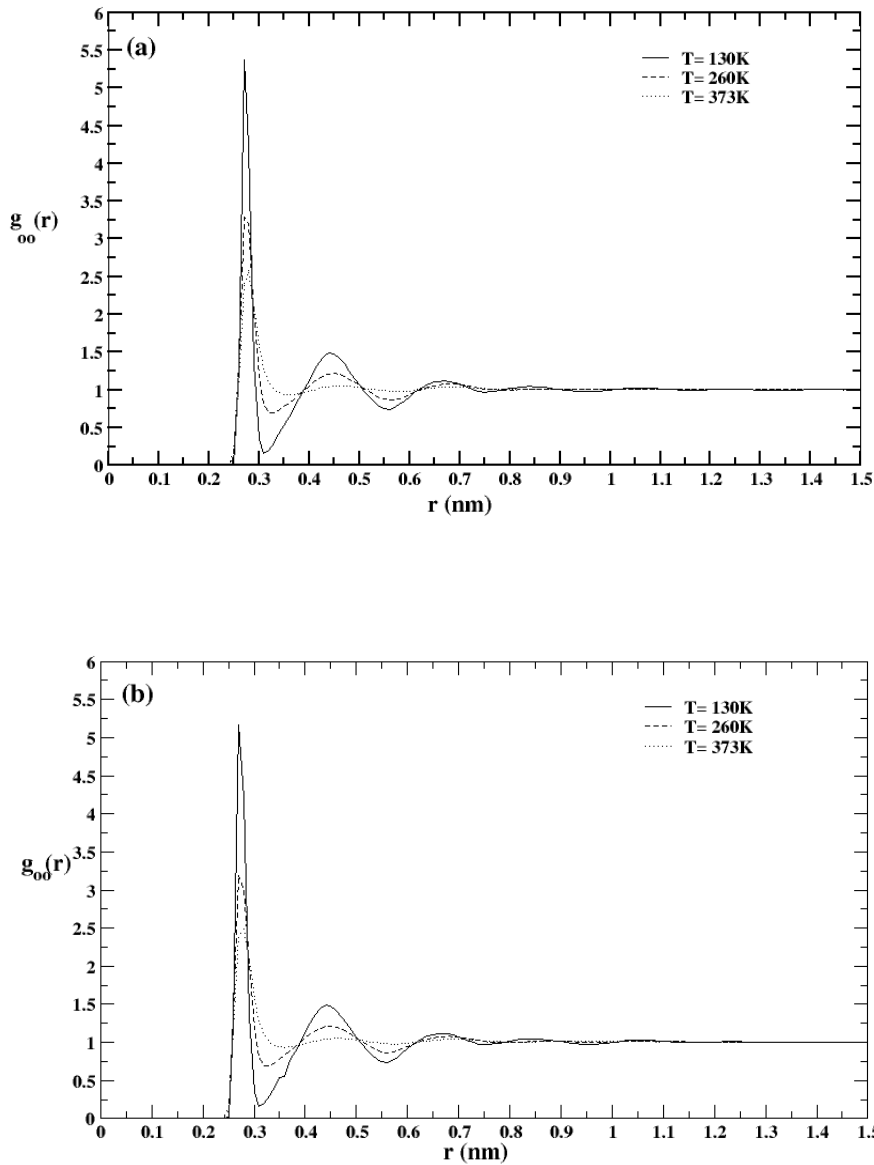


Figura 3.3: (a) Função de distribuição radial *versus*  $r$  para o sistema com proteína hidratada para o modelo SPC/E. (b) Função de distribuição radial *versus*  $r$  para o mesmo sistema, porém com o modelo TIP4P-2005. As seguintes temperaturas foram analisadas: 130K (curva contínua), 260K (curva tracejada) e 373K (curva pontilhada).

avaliação das propriedades da água próxima à proteína. Essa figura apresenta um aminoácido - alanina - e uma certa quantidade de água próxima a esse aminoácido. A distância da superfície da alanina é a primeira camada de solvatação da água, que nesse caso é  $r = 0,33$  nm.

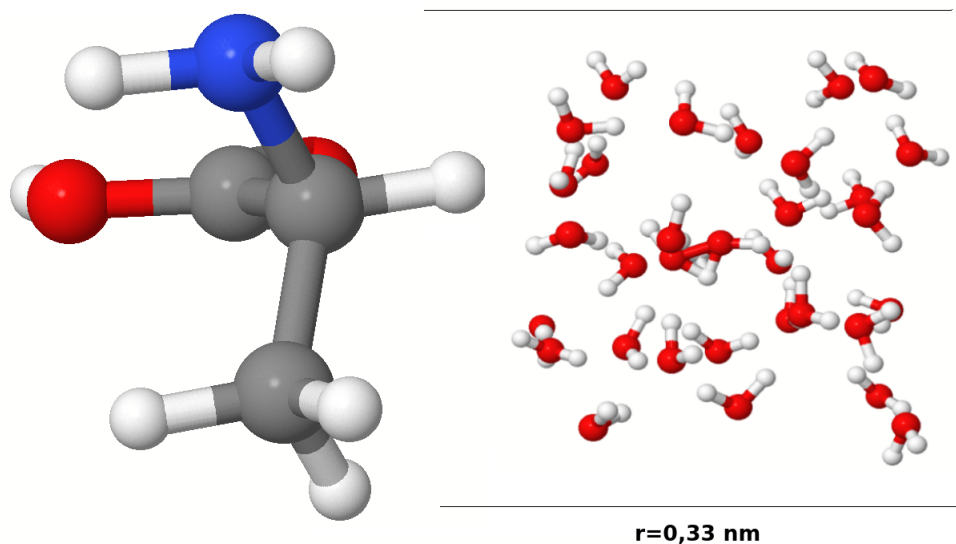


Figura 3.4: Representação de um aminoácido em contato com água. A densidade de água próxima a esse aminoácido é obtida pela razão do número de moléculas de água pelo volume da região representada.

Tabela 3.1: Tabela de aminoácidos da proteína TS-Kappa

| <b>Hidrofílico</b> | <b>Hidrofóbico</b> |
|--------------------|--------------------|
| Lisina             | Valina             |
| Arginina           | Alanina            |
| Ácido Aspártico    | Prolina            |
| Glicina            | Leucina            |
| Serina             | Isoleucina         |
| Treonina           | -                  |
| Tirosina           | -                  |
| Asparagina         | -                  |
| Glutamina          | -                  |

A figura 3.5 (a) apresenta o comportamento da densidade *versus* temperatura para o modelo SPC/E nas regiões próximas aos aminoácidos hidrofílicos. A figura 3.5 (b) representa a mesma configuração, porém, considerando o outro modelo estudado, o TIP4P-2005. As figuras 3.6 (a) e 3.6 (b) ilustram as curvas a densidade da água próxima às regiões hidrofóbicas da proteína, para os modelos SPC/E e TIP4P-2005, respectivamente. Os aminoácidos presentes nessa proteína e o seu tipo de interação com o água podem ser visto na tabela 3.1. Pra tornar a figura mais compreensível somente alguns aminoácidos da proteína foram selecionados para a análise.

Podemos observar nas figuras 3.5 e 3.6 que a medida que a temperatura diminui,

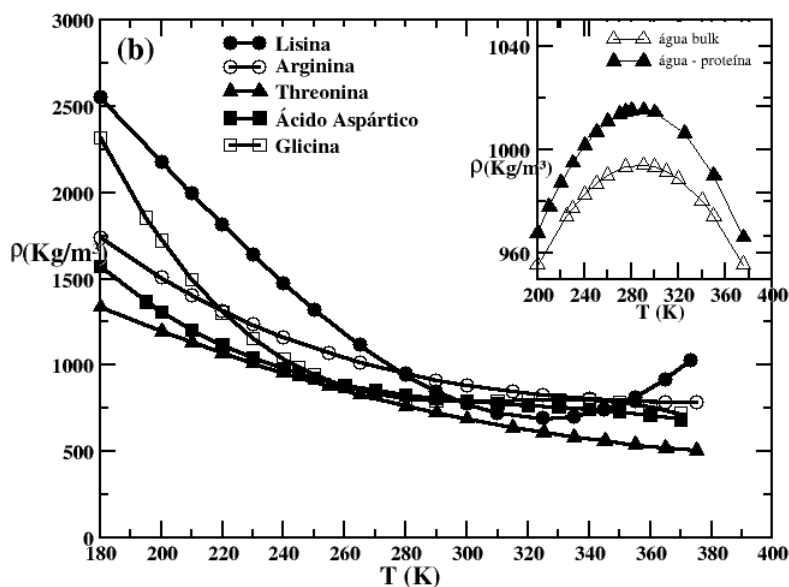
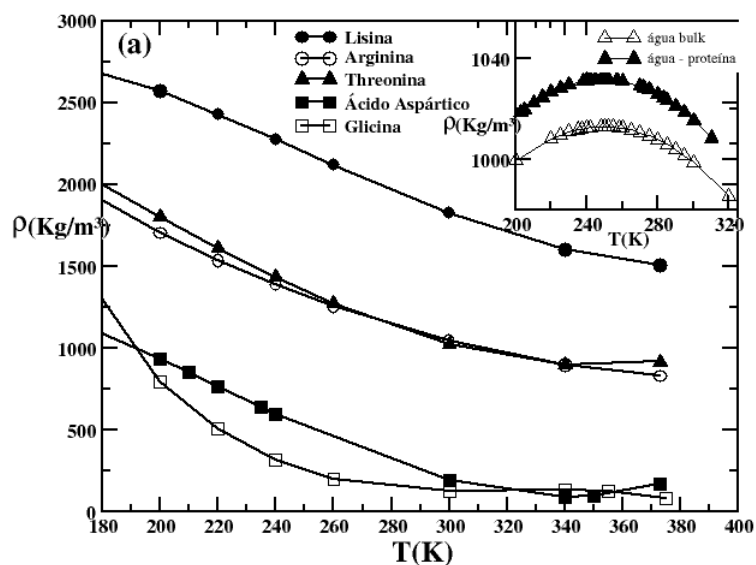


Figura 3.5: (a) Densidade *versus* temperatura para o modelo de água SPC/E próximo à região hidrofílica e (b) Densidade *versus* temperatura para o modelo de água TIP4P-2005 próximo à região hidrofílica. O *inset* representa a densidade total das moléculas de água *versus* temperatura para a água *bulk* (triângulos abertos) e para a proteína hidratada (triângulos fechados).



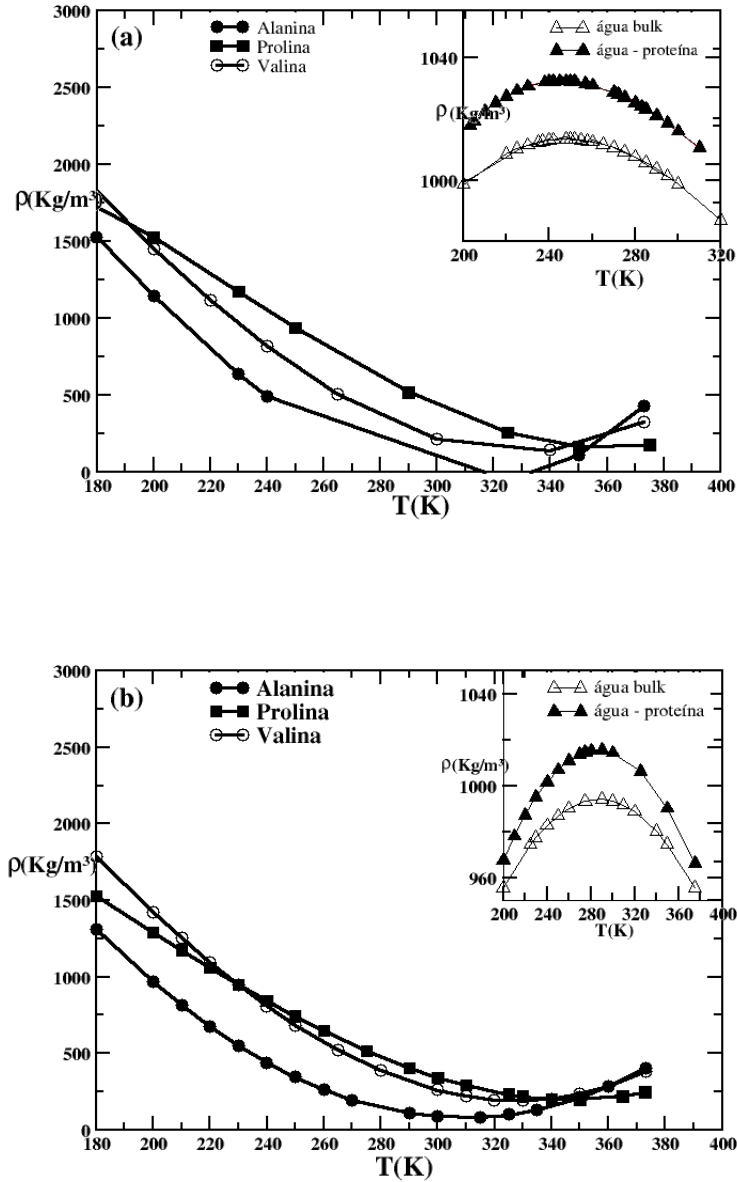


Figura 3.6: (a) Densidade *versus* temperatura para o modelo de água SPC/E próximo à região hidrofóbica e (b) Densidade *versus* temperatura para o modelo de água TIP4P-2005 próximo à região hidrofóbica. O *inset* representa a densidade total de moléculas de água *versus* temperatura para água *bulk* (triângulos abertos) e para a proteína hidratada (triângulos fechados).

a densidade da água próxima à superfície da proteína aumenta. A presença de um máximo na densidade para o sistema *bulk* se deve ao fato de que ao aumentar-se a temperatura, a partir da temperatura de máxima estruturação da água ( $T = 0^\circ\text{C}$  e

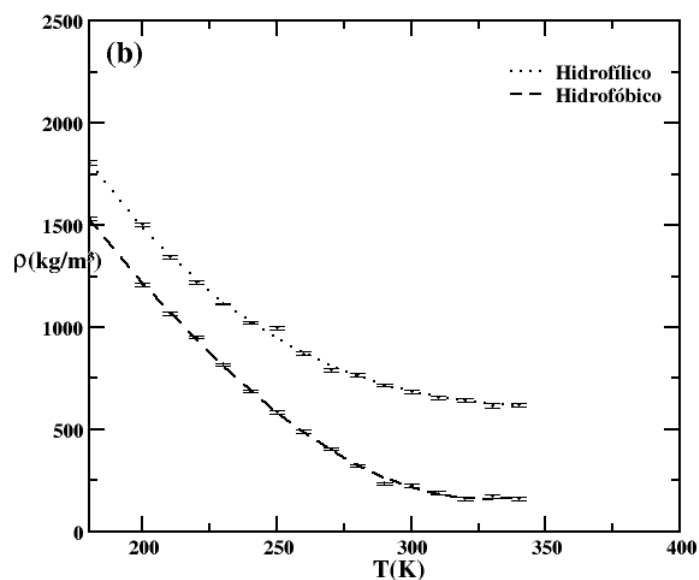
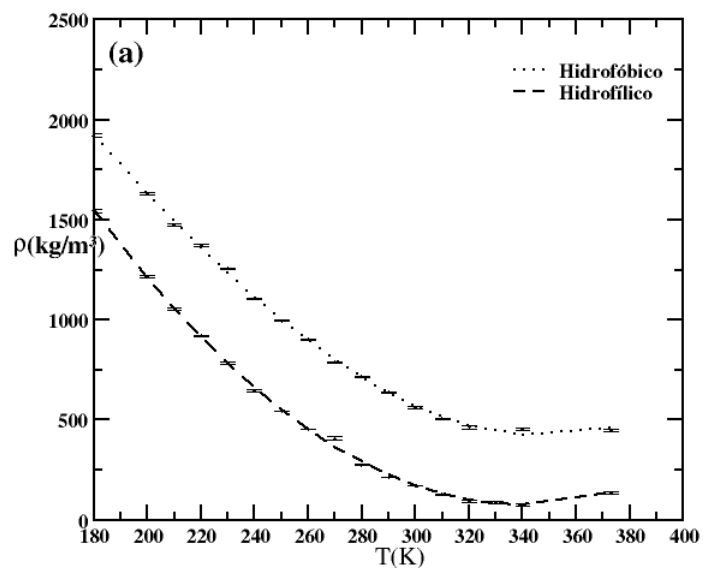


Figura 3.7: (a) Densidade média *versus* temperatura para o modelo SPC/E na camada de hidratação e (b) densidade média *versus* temperatura para o modelo TIP4P-2005 nessa mesma região. As densidade são calculadas próximas à região hidrofílica (linha pontilhada) e próxima à região hidrofóbica (linha tracejada)

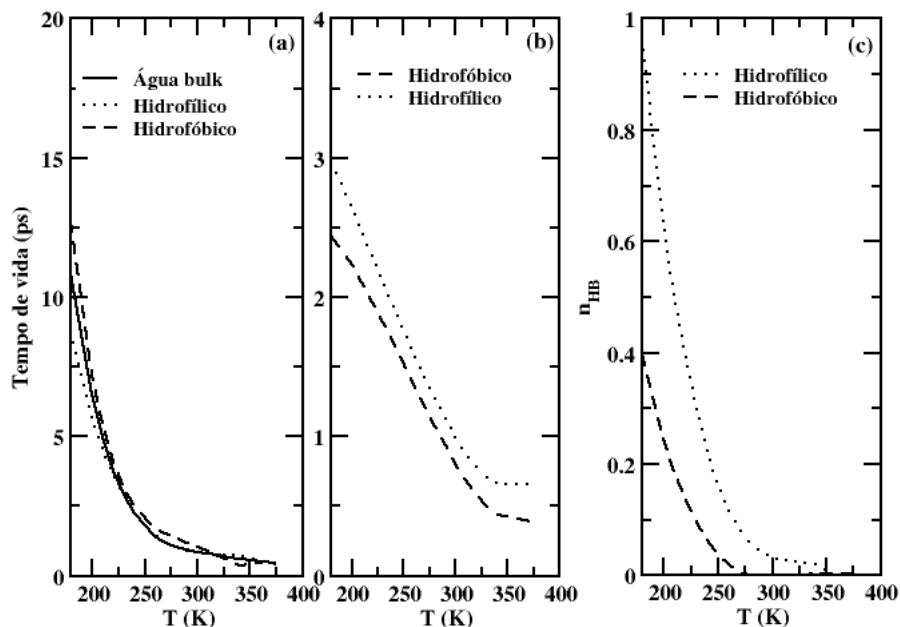


Figura 3.8: (a) Tempo de vida média de uma ligação de hidrogênio água-água para a água *bulk* (linha sólida), próxima à região hidrofóbica (linha tracejada) e próxima à região hidrofílica (linha pontilhada). (b) Tempo de vida médio entre as ligações de hidrogênio entre a água e a superfície hidrofílica e a superfície hidrofóbica da proteína. (c) Número de ligações de hidrogênio entre água e as regiões hidrofílicas e hidrofóbicas da proteína. Todas essas informações foram obtidas para o modelo SPC/E.

$P = 1atm$ ) as ligações de hidrogênio se rompem e as moléculas de água podem se aproximar. Ao aumentar ainda mais a temperatura ( $4^{\circ}C$ ) ocorre um máximo valor de densidade, a partir do qual a entropia domina e as moléculas se afastam. Ao inserirmos a proteína, algumas ligações de hidrogênio água-água se rompem mesmo para temperaturas baixas, fazendo com que o máximo na densidade ocorra para temperaturas menores [74, 94].

Para temperaturas bastante baixas os valores da densidade da água próximas às duas regiões da proteína, hidrofílica e hidrofóbica, apresentam valores maiores do que no *bulk*, conforme observado nas figuras 3.5 e 3.6. Para baixas temperaturas a entropia da água diminui e, sabendo que a proteína possui em sua estrutura uma maior concentração de aminoácidos hidrofílicos, combinado com essa diminuição de entropia da água conforme a temperatura é diminuída, as moléculas de água se tornam mais estruturadas e, com isso, aumentam a densidade próximas a esses sítios, a baixas temperaturas. Esse mesmo comportamento é observado para modelos tipo-água confinados em placas paralelas hidrofílicas e hidrofóbicas [77].

Com o intuito de compreender melhor esse comportamento da água próxima à superfície da proteína, calculamos na figura 3.8 (a) o tempo de vida médio de uma ligação de hidrogênio água-água *versus* temperatura para a água *bulk* (linha cheia), para a água próxima à região hidrofílica (linha pontilhada) e para a água próxima à superfície hidrofóbica (linha tracejada). Para baixas temperaturas, observamos que o tempo de vida médio de uma ligação de hidrogênio entre moléculas de água é maior quando a água está próxima à região hidrofóbica quando comparada com o tempo de vida médio da água próxima à superfície hidrofílica. Por outro lado, a figura 3.8 (b) mostra o tempo de vida médio de uma ligação de hidrogênio entre água e as regiões hidrofílicas e hidrofóbicas da proteína. É possível observar por essa figura que o tempo de vida das ligações de hidrogênio entre água e os sítios hidrofílicos é maior que o tempo de vida das ligações de hidrogênio entre água e os sítios hidrofóbicos. A figura 3.8 (c) mostra que o número de ligações de hidrogênio entre as moléculas de água e as regiões hidrofílicas é maior que o número de ligações de hidrogênio entre as moléculas de água e a superfície hidrofóbicas da proteína. O resultado obtido em 3.8 (c) junto com os resultados obtidos anteriormente em 3.8 (a) e 3.8 (b), mostra que a água próxima à região hidrofílica é mais estruturada do que a água próxima à região hidrofóbica.

Além de investigarmos o comportamento da água no modelo SPC/E, realizamos o mesmo procedimento para o modelo TIP4P-2005. É possível observar nas figuras 3.5 (b) e 3.6 (b) o comportamento da densidade da água *versus* temperatura para esse modelo, próxima à região hidrofílica e próxima à região hidrofóbica, respectivamente.

A proteína TS-Kappa é considerada uma biomolécula com um pequeno número de aminoácidos. Sendo assim, calculamos também a densidade média sobre toda a superfície hidrofílica (linha pontilhada) e sobre toda a superfície hidrofóbica (linha tracejada), conforme mostrado nas figuras 3.7 (a) e 3.7 (b). Essas figuras representam os resultados para a água SPC/E e TIP4P-2005, respectivamente.

Nas figuras 3.5 e 3.6 observa-se que, em geral, a densidade da água é maior próxima aos sítios hidrofílicos do que a densidade da água próximas aos sítios hidrofóbicos. Porém, isso não fica bem claro para todos os aminoácidos. Analisando as densidades médias para ambos os modelos (figuras 3.7(a) e 3.7(b)), podemos observar que a densidade da água próxima à região hidrofílica é maior do que a densidade da água para a região hidrofóbica.

Além da densidade da água ser maior na região próxima aos aminoácidos hidrofílicos do que nos hidrofóbicos, conforme a figura 3.7, observamos que para baixas temperaturas a densidade da água é maior próxima à proteína do que no *bulk*, conforme o *inset* mostrado nas figuras 3.5 e 3.6. Esse resultado é coerente com o observado em placas paralelas [79], onde para baixas temperaturas a densidade da água próxima às placas hidrofílicas e hidrofóbicas é maior do que no *bulk*.

Cabe aqui também ressaltar que a camada de hidratação definida nesse trabalho é a mesma para as regiões hidrofílicas e hidrofóbicas e possui o valor do primeiro mínimo da  $g_{oo}(r)$  da figura 3.3 que representa a primeira camada de hidratação da água. O que vai de encontro com trabalhos encontrados na literatura, que medem a primeira camada de hidratação como sendo o "pico" na densidade próxima à superfície considerada.

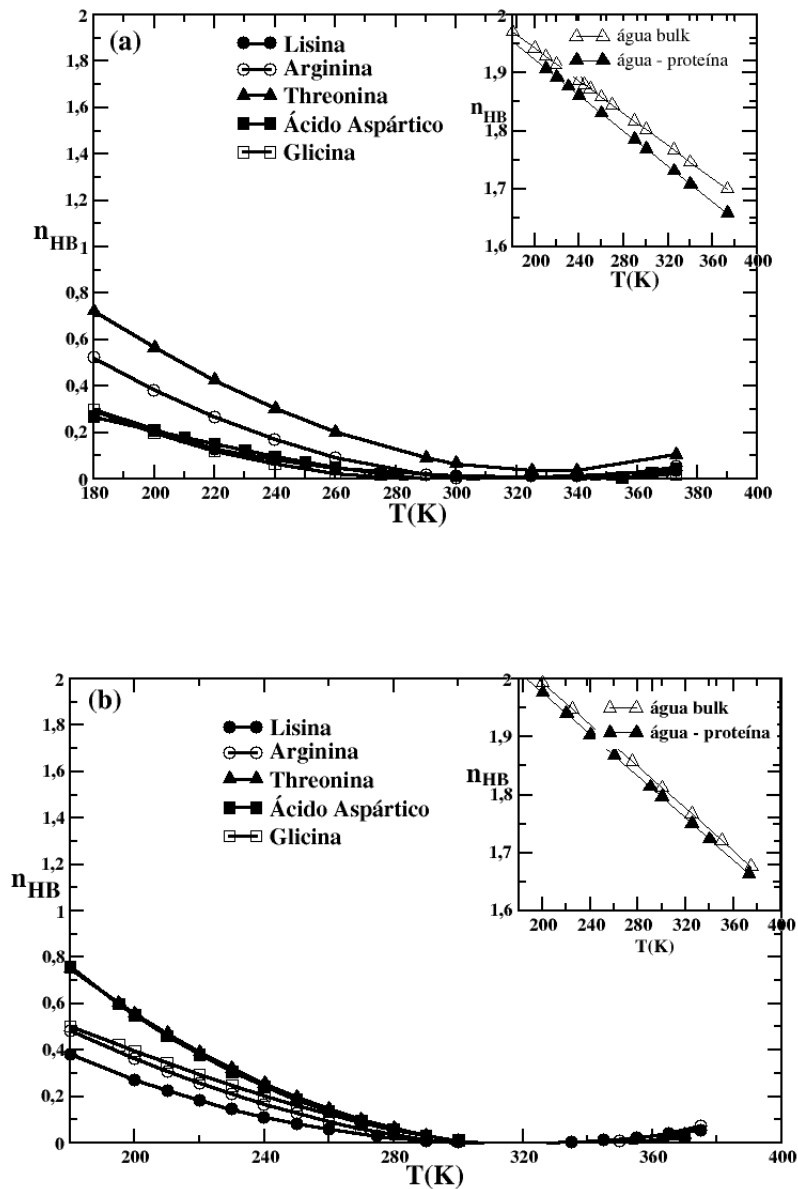


Figura 3.9: (a) Número de ligações de hidrogênio água-água, por molécula de água, *versus* temperatura para o modelo SPC/E próximo à região hidrofílica. (b) Número de ligações de hidrogênio água-água, por molécula de água, *versus* temperatura para o modelo TIP4P-2005 próximo à região hidrofílica. O *inset* representa as ligações de hidrogênio entre as moléculas de água para o sistema *bulk* (triângulos abertos) e para o sistema com a proteína hidratada (triângulos fechados).

### 3.4 Ligações de hidrogênio água-água próximo à proteína

Para melhor compreender esse comportamento da água a baixas temperaturas,

calculamos num segundo momento o número de ligações de hidrogênio entre as moléculas de água somente para as moléculas dentro da primeira camada de hidratação.

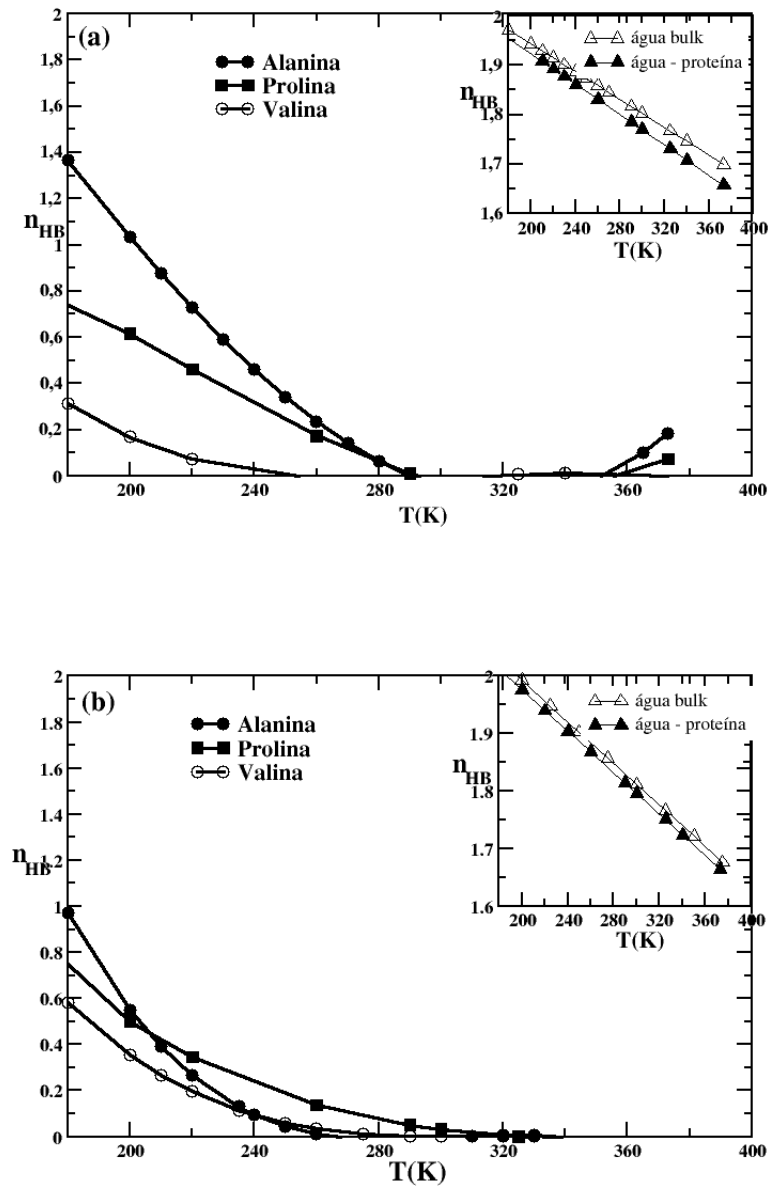


Figura 3.10: (a) Número de ligações de hidrogênio água-água, por molécula de água, *versus* temperatura para o modelo SPC/E próximo à região hidrofóbica. (b) Número de ligações de hidrogênio água-água, por molécula de água, *versus* temperatura para o modelo TIP4P-2005 próximo à região hidrofílica. O *inset* representa as ligações de hidrogênio entre as moléculas de água para o sistema *bulk* (triângulos abertos) e para o sistema com a proteína hidratada (triângulos fechados).

Nas figuras 3.9 (a) 3.10 (a) é mostrado o gráfico do número de ligações de hidrogênio água-água (por molécula de água) *versus* temperatura para o modelo SPC/E. Em 3.9(a) é mostrado esse comportamento para a água próxima à aminoácidos hidrofílicos e em 3.10(a) para a água próxima a aminoácidos hidrofóbicos. Representamos o número de ligações de hidrogênio por  $n_{HB}$ , onde o subíndice  $HB$  vem do termo em inglês *HydrogenBonds*, que significa ligações de hidrogênio.

As regiões analisadas foram as mesmas descritas anteriormente para a densidade. Como podemos ver nessa figura, conforme a temperatura é diminuída o número de  $HB$  aumenta gradativamente.

Devido ao pequeno número de aminoácidos da proteína, calculamos também o  $n_{HB}$  médio entre as moléculas de água sobre toda a superfície hidrofílica e o  $n_{HB}$  entre as moléculas de água sobre toda a superfície hidrofóbica. Esse comportamento pode ser observado na figura 3.11 (a), onde verifica-se um aumento mais acentuado na região onde ocorre o máximo global na densidade para o modelo SPC/E, ou seja, na região em torno de  $T = 240K$ .

Esse aumento mais acentuado no número de ligações de hidrogênio conforme a temperatura diminui, indica que sistema torna-se mais estruturado na região próxima à proteína para baixas temperaturas.

Para altas temperaturas o número de ligações de hidrogênio entre as moléculas de água entre as superfícies da proteína é bastante baixa. Para temperaturas  $T > 240K$  esse baixa número reflete o baixo número de moléculas de água que se encontram na superfície da proteína, como pode ser observado nas figuras 3.5 (a) e 3.6 (a) que mostra que para altas temperaturas uma baixa densidade de água é encontrada nessas regiões.

Comparando os resultado obtidos na figura 3.11 (a), que mostra o número de ligações de hidrogênio água-água próxima à superfície da proteína, observamos que o  $n_{HB}$  visualizado aqui é menor do que no *bulk*. Como pode ser visto na figura 3.2 (c). A água além de fazer ligações de hidrogênio com a moléculas de água vizinhas, está se ligando também com a superfície da proteína. Isso também indica que a água próxima à proteína é menos estruturada que a água na forma *bulk*.

As figuras 3.9 (b) e 3.10 (b) mostra o número de ligações de hidrogênio água-água por molécula de água, próxima à região hidrofílica e próxima à região hidrofóbica, respectivamente, para o modelo TIP4P-2005.

Conforme visto no modelo SPC/E, o  $n_{HB}$  aumenta conforme a temperatura é diminuída também para o modelo TIP4P-2005, de acordo com 3.11 (b). Com um aumento mais pronunciado na região em torno de  $T < 275K$ , que é a temperatura onde ocorre o máximo na densidade para a água *bulk* do modelo TIP4P-2005. Também, para esse modelo, o número de ligações de hidrogênio água-água por molécula de água é menor do que no *bulk*, conforme mostra a figura 3.2 (d).

Conforme observado para o modelo SPC/E, anteriormente descrito, o  $n_{HB}$  água-água próximo aos sítios hidrofóbicos é maior do que  $n_{HB}$  água-água próximo aos sítios hidrofílicos. Isso sugere que a estrutura tetraédrica da água é distorcida localmente na vizinhança da região hidrofílica, quebrando ligações de hidrogênio entre as moléculas de água para formar ligações com essa superfície da proteína, fazendo com que a estrutura da água próximo à superfície hidrofóbica seja melhor preser-

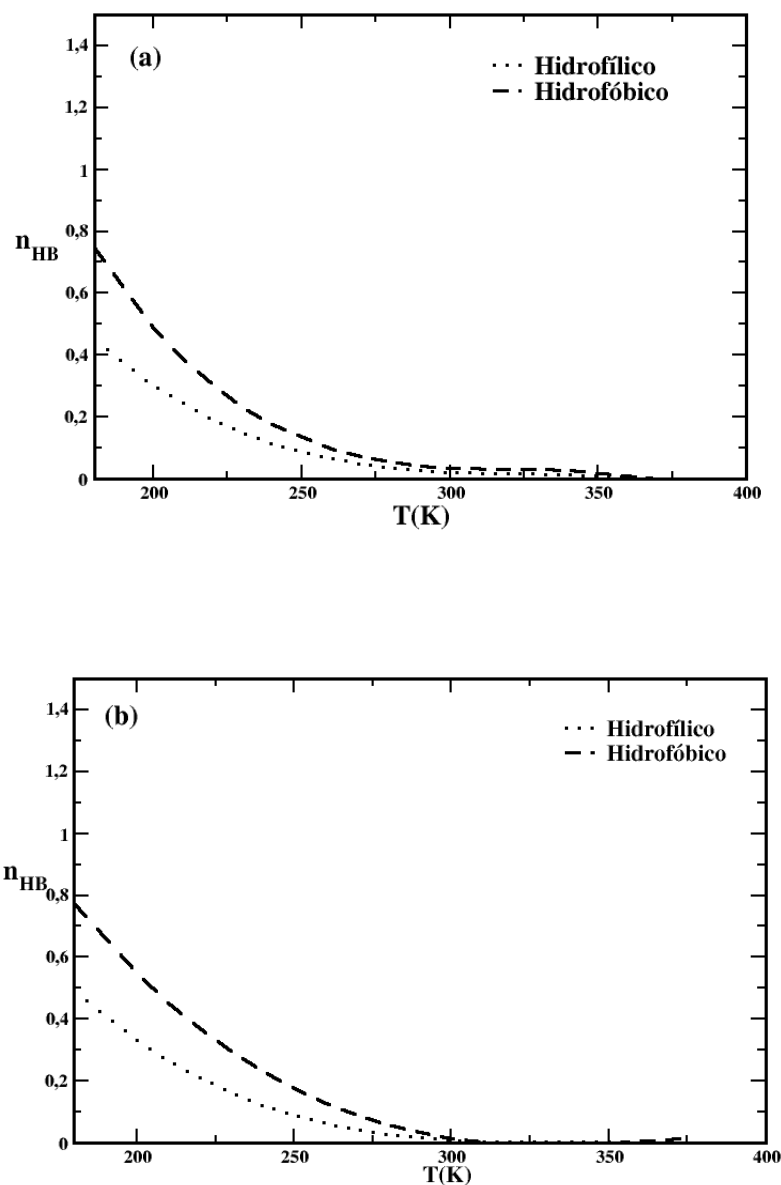


Figura 3.11: Número de ligações de hidrogênio médio, por molécula de água, *versus* temperatura para o modelo (a) SPC/E e para o modelo (b) TIP4P-2005, sobre todos aminoácidos hidrofílicos (linha pontilhada) e sobre todos aminoácidos hidrofóbicos (linha tracejada).

vada. Esse resultado é bastante coerente com o que observamos nas figuras 3.5 e 3.6 onde verificamos que a densidade da água próxima à região hidrofílica é maior do que próxima à região hidrofóbica.

A diferença entre o número de ligações de hidrogênio nas vizinhanças de diferen-



tes aminoácidos hidrofóbicos, está relacionada ao nível de hidrofobicidade de cada aminoácido e também à topologia da superfície da proteína na região analisada. Por exemplo, é possível observar que o  $n_{HB}$  próximo à Alanina é maior para a água SPC/E do que na água TIP4P-2005. Isso pode estar relacionado ao fato da Alanina ser um aminoácido fracamente hidrofóbico, ou seja, repele menos as moléculas de água comparado com outros aminoácidos, e também ao fato da água SPC/E formar mais *cluster* em sua estrutura do que o modelo TIP4P-2005, como o mostra a referência [95]. Sendo assim, um maior número de ligações de hidrogênio irá se formar para o modelo SPC/E próximo a esse aminoácido.

### 3.5 Difusão da água próximo à proteína

Conforme vimos na seção anterior, as moléculas de água estão mais estruturadas próximas à superfície da proteína. Para compreender melhor esse fenômeno, calculamos a difusão das moléculas de água em cada uma das regiões da TS-Kappa.

A figura 3.12 mostra o comportamento da difusão das moléculas de água da primeira camada de solvatação em função da temperatura. Em (a) analisamos esse comportamento para a água próxima à aminoácidos hidrofóbicos. Em (b) a análise foi feita para moléculas de água próximas à regiões hidrofílica da proteína. Como podemos observar nessas duas figuras, existe grande flutuação na difusão, principalmente, para altos valores de temperaturas.

Com o objetivo de se compreender melhor a difusão nessa região, construímos as curvas 3.12 (c) e 3.12 (d). Nessas duas últimas figuras, calculamos a difusão média da água sobre todas as regiões hidrofóbicas (c) e a difusão média da água sobre todas as regiões hidrofílicas (d).

Para altos valores de temperaturas,  $T > 300K$  a difusão da água próximo à superfície da proteína possui valores comparados com o sistema *bulk*, como pode ser visto em 3.12 (a) e 3.12 (b). Porém nas figuras 3.12 (c) 3.12 (d) é possível observar que a difusão para a água *bulk* é maior do que a difusão da água próximo à proteína. Podemos ainda observar que a difusão da água para baixas temperaturas, apresenta uma diferença de difusão mais acentuadas para o *bulk* do que para a água na camada de hidratação. O que indica uma menor mobilidade da água nessa região.

Como vimos nas seções anteriores, a água se torna mais estruturada próxima à superfície da TS-Kappa. Esse comportamento pode ser visto também nesse caso, onde para baixas temperaturas, a água apresenta menor entropia do que para o caso *bulk*.

Outro ponto que podemos observar é que a difusão da água próximo à região hidrofílica é menor do que a difusão da água próximo à região hidrofóbica. Como vimos nas seções anteriores, a água realiza um número maior de ligações com a superfície hidrofílica da proteína. E como consequência a água tem uma menor facilidade de se locomover próxima a essa região. E, por conseguinte, a difusão da água próxima a região hidrofílica é menor do que a difusão da água próxima à região hidrofóbica.

O outro modelo de água que estudamos a difusão da água foi o TIP4P-2005.

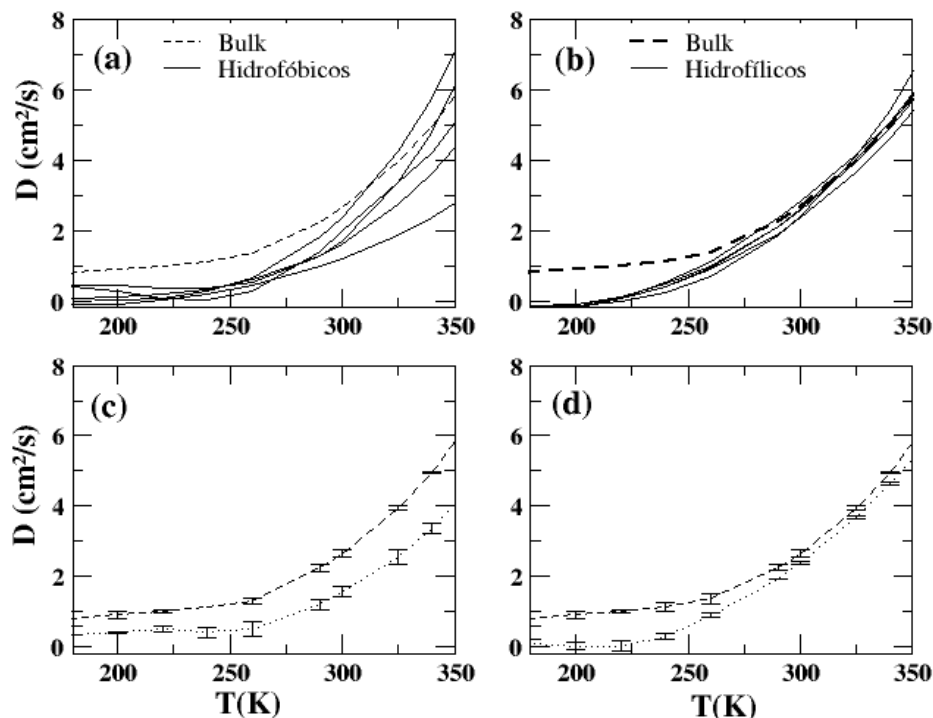


Figura 3.12: (a) Difusão *versus* temperatura para a água próxima à região hidrofóbica da proteína. (b) Difusão *versus* temperatura para a água próxima à região hidrofílica da proteína. (c) Difusão média da água sobre todos os aminoácidos hidrofóbicos *versus* temperatura. (d) Difusão média da água sobre todos os aminoácidos hidrofílicos *versus* temperatura. Todos os cálculos foram realizados com o modelo SPC/E.

A figura 3.13 mostra a mesma análise que foi feita anteriormente para o modelo SPC/E. Também observamos aqui que conforme a temperatura diminui, a difusão da água também diminui, indicando que a água está se movendo menos nessa região quando comparada com a água *bulk*.

Portanto, investigamos nas figuras 3.12 e 3.13 o comportamento da difusão das moléculas nas regiões próximas à superfície da TS-Kappa. Observamos que a difusão diminui conforme a temperatura da água é diminuída, sendo menor do que os valores de difusão encontrados para o *bulk*. É notado também nesses gráficos que a difusão da água para baixas temperaturas é praticamente nula. Sendo que para a água próxima à região hidrofílica da proteína, essa diminuição parece mais destacada. Isso se deve ao fato de a água além de realizar ligações de hidrogênio com outras moléculas de água vizinhas a essa região, realizam ligações com a superfície da proteína, tornando a água mais conectada com a região hidrofílica da TS-Kappa,

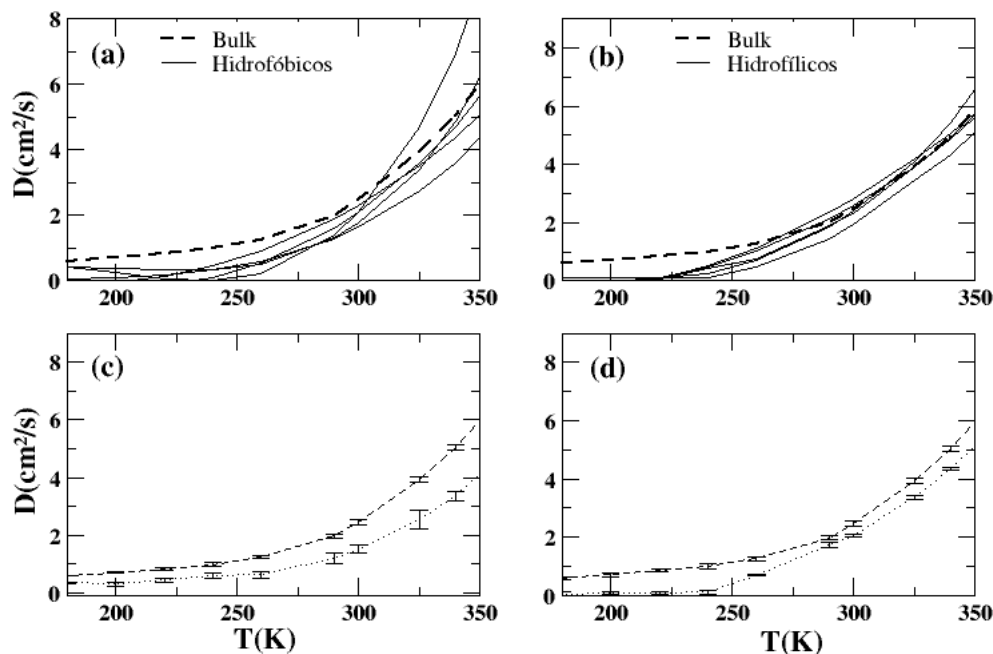


Figura 3.13: (a) Difusão *versus* temperatura para a água próxima à região hidrofóbica da proteína. (b) Difusão *versus* temperatura para a água próxima à região hidrofílica da proteína. (c) Difusão média da água sobre todos os aminoácidos hidrofóbicos *versus* temperatura. (d) Difusão média da água sobre todos os aminoácidos hidrofílicos *versus* temperatura. Todos os cálculos foram realizados com o modelo TIP4P-2005.

conforme observamos em 3.8.

Com o objetivo de compreender a influência da proteína na difusão da água, construímos o gráfico 3.14 que calcula a difusão da água para três diferentes regiões do sistema estudado. Uma região entre 0,3 – 0,6nm da superfície da proteína; uma região entre 0,6 – 0,9nm e a própria região da camada de hidratação discutida anteriormente. A região entre 0,3 – 0,6nm é aproximadamente a segunda camada de solvatação da água *bulk*, conforme observado em 3.3.

Para compreender os efeitos da proteína na difusão das moléculas de água, realizamos os cálculos apenas para o modelo SPC/E. A figura 3.14 mostra a difusão da água em função da distância da superfície da proteína. É possível observar em 3.14 o comportamento da difusão para cinco diferentes temperaturas do sistema. As temperaturas escolhidas foram:  $T = 180K$ ,  $T = 220K$ ,  $T = 260K$ ,  $T = 290K$  e  $T = 350K$ .

Para baixas e altas temperaturas as diferenças entre os valores de difusão da água *bulk* e a água da primeira camada de hidratação são pequenos. Com a diminuição da temperatura a entropia do sistema diminui, fazendo com que as moléculas de água

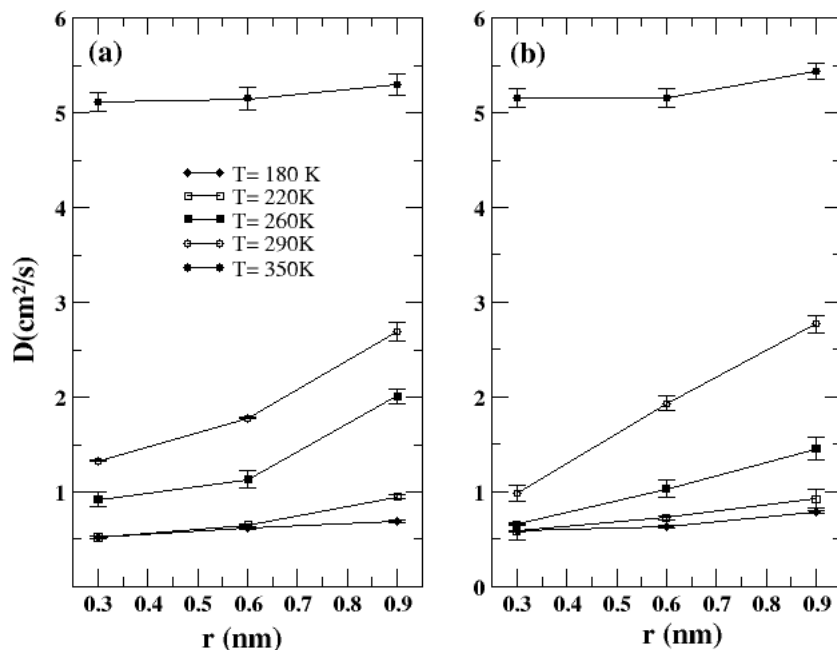


Figura 3.14: (a) Difusão *versus*  $r$  para a água próxima à região hidrofóbica e (b) Difusão *versus*  $r$  para a água próxima à região hidrofílica.

se tornem mais estruturadas, tanto para o sistema *bulk* como para o sistema com a proteína hidratada e, conseqüentemente, a difusão da água diminui.

Quando aumentamos a temperatura do sistema, observamos que poucas moléculas de água estão próximas à superfície da proteína, o que faz com que o número de ligações de hidrogênio diminua, onde, tanto para o sistema de água pura quando para o sistema hidratado as ligações de hidrogênio água-água e água-proteína tornam-se menores com o aumento da temperatura, como pode ser observado na figura 3.8. O que faz com que a atração - ou repulsão da proteína com as moléculas de água se tornem menos importantes, isso faz com que a difusão da água nessas regiões seja muito semelhante com o *bulk*.

Para as temperaturas intermediárias, como mostrando em 3.14 (a) e 3.14 (b), podemos observar uma diferença entre a difusão da água conforme aproximamos nossa análise da superfície da TS-Kappa. Esse comportamento da difusão em regiões próximas e distantes de sistemas biológicos, foi estudado por Hua *et al* [96], que estudaram a dinâmica da água confinada em interdomínios de uma proteína. Eles observaram que a difusão próximo a região das proteínas diminui, quando comparada com o *bulk*.

Nesses casos, a difusão da água é menor para a primeira camada de hidratação tanto para a região hidrofílica quanto para a região hidrofóbica. Observamos também que a diminuição é menos acentuada para a água próxima à região hidrofóbica

do que para a região hidrofílica, o que realmente sugere que a água está mais conectada com os aminoácidos hidrofílicos, o que faz com que a difusão diminua nessa região. Para distâncias maiores do que 0,6nm a água apresenta um comportamento de *bulk*.

### 3.6 Resumo do Capítulo

Nesse capítulo estudamos a densidade e o número de ligações de hidrogênio água-água *versus* temperatura para a água *bulk* e também para um sistema com a proteína TS-Kappa imersa em água. Nos sistemas *bulk*, com as águas SPC/E e TIP4P-2005, a água apresenta um máximo na densidade em  $T = 250K$  e  $T = 280K$ , respectivamente. Para o sistema com a proteína hidratada a TMD é deslocada para uma região de menor temperatura comparada com a TMD para o sistema *bulk*. A presença da proteína aumenta a entropia e, conseqüentemente, afeta na competição entre os estados ligados e os estados não-ligados das interações entre as moléculas de água. A curva densidade *versus* temperatura para o sistema com proteína hidratada mostra um comportamento com valores de densidade maiores do que no sistema de água pura. Esse aumento na temperatura está relacionado pelo fato da água possuir em sua superfície uma maior quantidade de aminoácidos hidrofílicos, que atraem a água para a região da TS-Kappa. Analisando o comportamento da água perto da superfície da biomolécula, não se observa mais o comportamento anômalo na densidade da água. A densidade tem um comportamento monotônico com a temperatura. Para baixas temperaturas a densidade da água é maior em regiões hidrofílicas do que em regiões hidrofóbicas. Ambas são maiores do que no *bulk* para baixas temperaturas. A maior densidade próxima à região hidrofílica pode ser explicada, pois, essa região forma ligações de hidrogênio com as moléculas de água, fazendo com que a água rompa ligações de hidrogênio entre si, compactando-se na região próxima à superfície da proteína. Nas regiões hidrofóbicas as ligações com a proteína são poucas e transitórias. E a rede de ligações de hidrogênio água-água permanece intacta, aumentando assim seu volume.

Os resultados desse capítulo estão resumidos no artigo da referência [54].

# Capítulo 4

## Placas paralelas imersas em água

Neste capítulo introduzimos um modelo mínimo para descrever a interação dos sítios hidrofílicos e hidrofóbicos da proteína com água. Analisamos o comportamento da água interagindo com placas paralelas imersas neste líquido. Na primeira seção serão discutidos os resultados referentes às placas paralelas imersas em água, interagindo de maneira hidrofílica. Na segunda seção os resultados apresentados serão referentes às placas paralelas hidrofóbicas imersas em água. Enquanto que na terceira seção serão discutidos os resultados investigados utilizando placas paralelas mistas, ou seja, regiões de interação hidrofílica e regiões de interação hidrofóbica.

### 4.1 O Modelo

Estudamos um modelo de placas paralelas imersas em um fluido do tipo água. As paredes das placas são formadas por um conjunto de 225 partículas de diâmetro  $\sigma_P$ , totalizando 450 partículas nas placas. Um esquema para visualizar as placas paralelas imersas em água é exemplificado na figura 4.1. As esferas em vermelho representam as placas e as esferas em amarelo representam o fluido do tipo água.

Antes de definirmos as equações que governam as interações entre os constituintes do sistema, precisamos definir as unidades que utilizamos nesse trabalho. A separação entre as placas  $d$ , o tamanho da caixa de simulação  $L$  e a densidade  $\rho$  escritas em unidades reduzidas são apresentadas em 2.7.

As interações água-água são mediadas por um potencial de duas escalas [23], que é composto basicamente por um Lennard Jones somado de uma gaussiana, conforme mostra a equação 4.1.

$$U^*(r) = \frac{U(r)}{\epsilon} = 4 \left[ \left( \frac{\sigma_a}{r} \right)^{12} - \left( \frac{\sigma_a}{r} \right)^6 \right] + a \exp \left[ -\frac{1}{c^2} \left( \frac{r - r_0}{\sigma_a} \right)^2 \right] \quad (4.1)$$

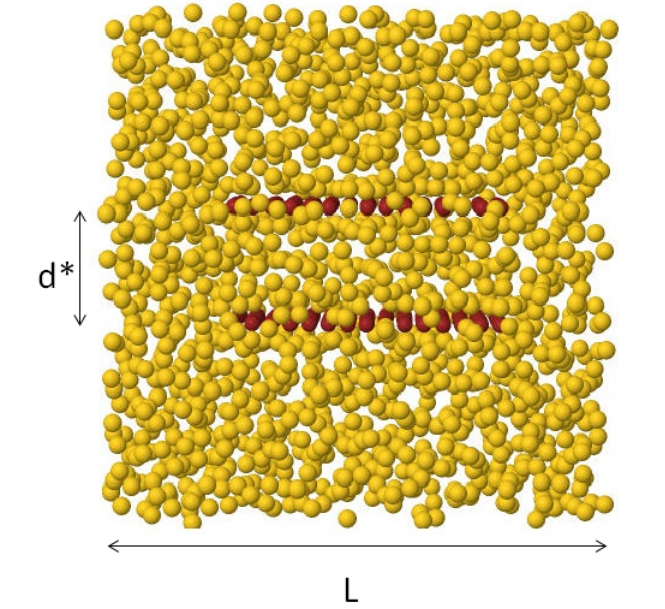


Figura 4.1: Representação esquemática do sistema de placas paralelas. Estão representados o tamanho da caixa de simulação  $L^*$  e a distância entre as placas  $d^*$ .

$$U_{SAT}^* = \frac{U_{SAT}}{\epsilon} = \begin{cases} D_1[(\sigma/r)^{12} - (\sigma/r)^6] + D_2(r/\sigma) - \epsilon_5, & r \leq r_{c5} \\ 0, & r > r_{c5} \end{cases} \quad (4.2)$$

$$U = \begin{cases} U_{LJ}(r_{ij}) - U_{LJ}(r_{cp}), & r \leq r_{cp} \\ 0, & r > r_{cp} \end{cases} \quad (4.3)$$

Utilizamos para descrever esse sistema, a dinâmica molecular clássica em um *ensemble* NVT. Com o objetivo de compreender os efeitos da interação das diferentes regiões de uma proteína com a água, estudada no capítulo anterior, serão utilizados dois diferentes tipo de interação entre as placas e o fluido do tipo água. Um potencial atrativo (SAT), mostrado na equação 4.2 e um potencial puramente hidrofóbico (WCA), descrito em 4.3.

Um representação esquemática do sistema com as placas paralelas é mostrado na figura 4.1.

## 4.2 Placas hidrofílicas imersas em água

Analizamos inicialmente um sistema com um potencial atrativo dado pela equação

4.2 entre as placas e as partículas do tipo água, e variamos a distância  $d^*$  entre as placas.

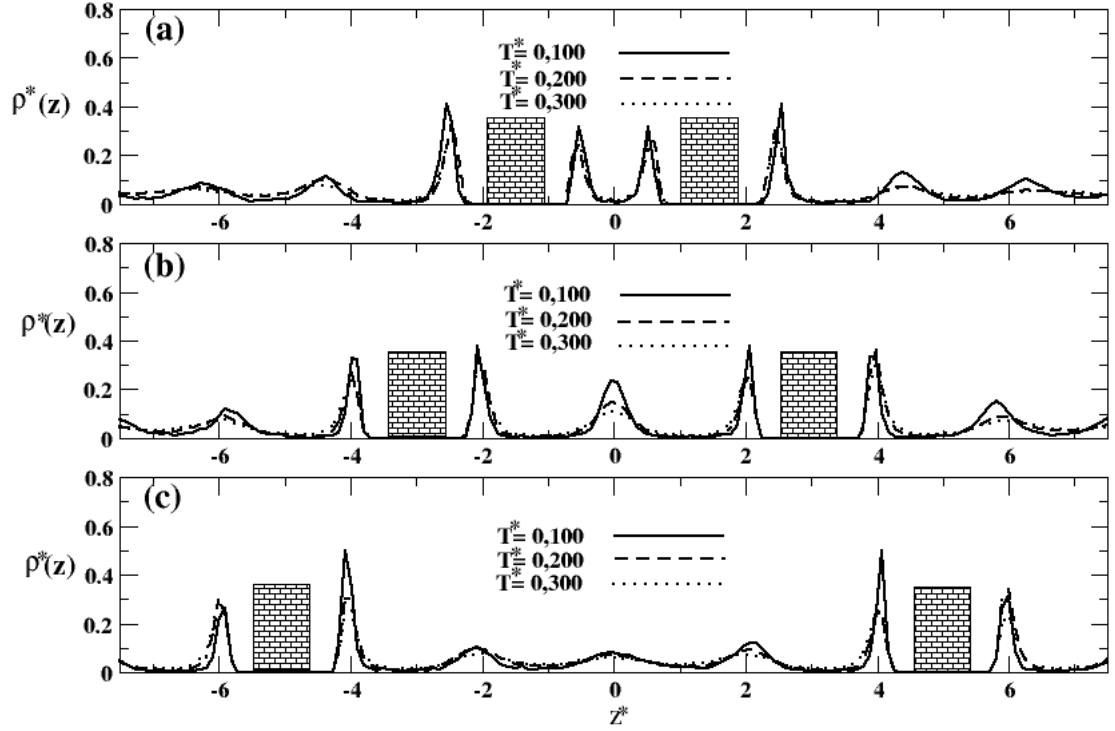


Figura 4.2: Cortes em  $z^*$  nos perfis de densidade transversal para (a)  $d^* = 3, 0$ , (b)  $d^* = 6, 0$ , (c)  $d^* = 10, 0$  para  $L^* = 24, 0$  para placas paralelas hidrofílicas. As placas localizam-se nos pontos (a)  $z^* = -1, 5$  e  $1, 5$ , (b)  $-3, 0$  e  $3, 0$  e (c)  $-5, 0$  e  $5, 0$ .

O primeiro sistema estudado é o de maior densidade, com  $L^* = 24, 0$  e três diferentes distâncias de separação entre as placas imersas. A figura 4.2 (a) mostra o perfil de densidade para a configuração  $L^* = 24, 0$  e  $d^* = 3, 0$ . É possível observar a estruturação das partículas do tipo água em duas camadas próximas às paredes, localizada em  $z^* = 1, 5$  e  $z^* = -1, 5$ , que são as camadas essas denominadas de camadas de contato, por estarem próximas às paredes confinantes. Para sistemas com distâncias de separação maiores entre as placas, um número maior de camadas surge.

Com o objetivo de se analisar a estrutura das diferentes camadas, calculamos a função de distribuição radial no plano da camada,  $g_{||}(r_{||})$ , para a camada de partícula do tipo água central, para a camada de contato e também para a camada de partícula do tipo água não confinada.

A figura 4.3 (a) mostra a  $g_{||}(r_{||})$  para a camada de água não confinada e a figura 4.3 (b) para a camada de contato confinada. É possível observar que para ambas as estruturas o comportamento é praticamente o mesmo, as estruturas se comportam como líquidos. Verificamos também que a medida que a temperatura diminui o



primeiro pico da  $g_{||}(r_{||})$  aumenta de tamanho, enquanto que o segundo pico diminui. Esse comportamento na estrutura do sistema pode ser atribuído à competição entre as duas escalas do potencial de interação partícula-partícula, mostrado em maiores detalhes no capítulo 2, que também é responsável pela presença do comportamento anômalo na densidade da água.

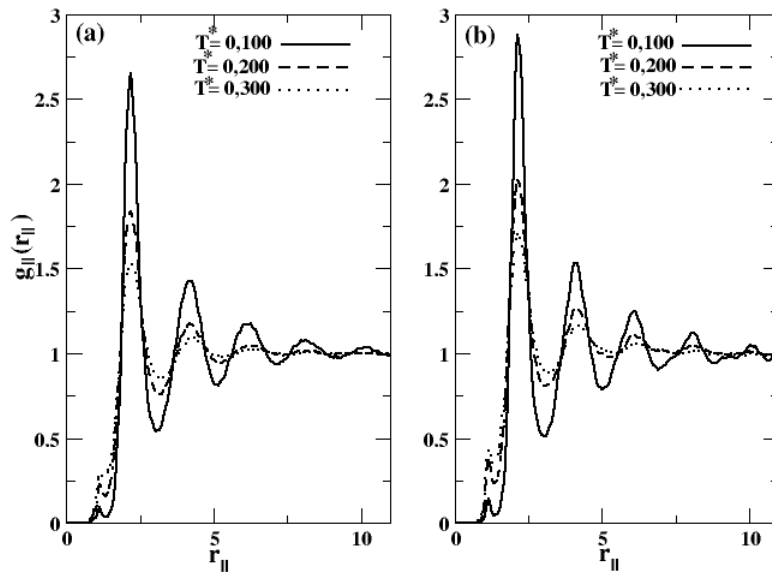


Figura 4.3:  $g_{||}(r_{||})$  versus  $z^*$  para a uma camada (a) externa à placa e (b) para uma camada de contato na parte confinada para placas paralelas hidrofílicas.

A figura 4.2 (b) mostra o perfil de densidade de um sistema com  $L^* = 24,0$ , porém para distância entre as placas maior:  $d^* = 6,0$ . A estruturação das partículas do tipo água é observada em duas camadas de contato na parte confinada e também o surgimento de uma camada central entre as placas.

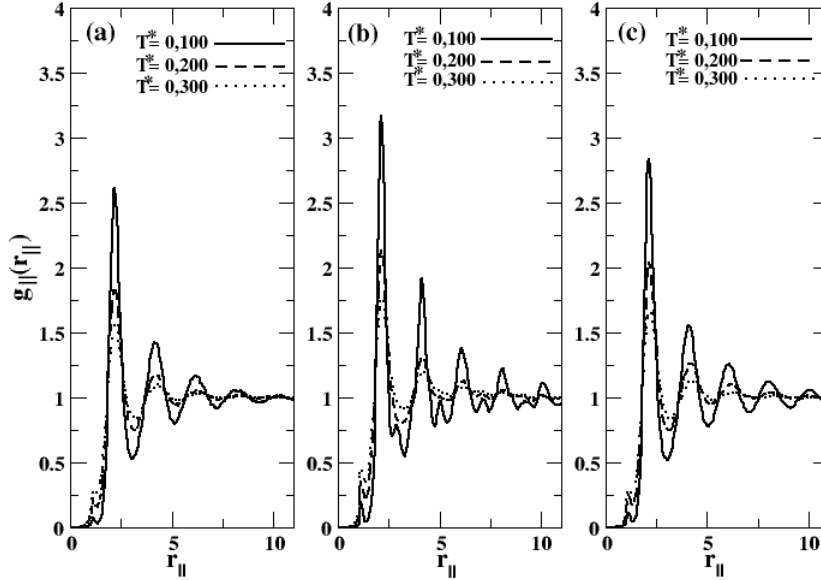


Figura 4.4:  $g_{||}(r_{||})$  para a uma camada (a) externa à placa, (b) para uma camada de contato na parte confinada e (c) para a camada central da configuração de  $d^* = 6,0$  e  $L^* = 24,0$  para placas paralelas hidrofílicas.

O sistema com maior afastamento entre as placas hidrofílicas ( $d^* = 10,0$ ) é possível observar na figura 4.2 (c) a formação de três camadas centrais de menor tamanho quando comparada com a camada central do sistema com separação  $d^* = 6,0$ , além das camadas de contato na parte confinada e das camadas próximas à superfície da placa na parte não confinada. As partículas do tipo água próximas à placa apresentam picos de densidade de maiores tamanhos.

Analisando a figura 4.3 é possível observar a  $g_{||}(r_{||})$  para o sistema de  $L^* = 24,0$  e  $d^* = 6,0$ . Onde estão representadas em (a) a camada de contato externa à placa, em (b) a camada de contato na região de confinamento e em (c) a camada central. É possível observar que em todos os casos o sistema apresenta características de líquido, enquanto que para as regiões de confinamento ((b) e (c)) o primeiro pico apresenta um valor maior do que na região não confinada (a). Em 4.3 (b), para a separação de  $d^* = 6,0$  é possível observar que para temperatura de  $T^* = 0,100$  o sistema apresenta um comportamento tipo amorfo para a camada de contato da região confinada.

Também é possível destacar que o sistema apresenta um aumento na densidade de acordo com que a temperatura é diminuída. Tanto para a região confinada, quanto para a região não confinada. Isso está de acordo com o trabalho envolvendo somente placas paralelas hidrofílicas, utilizando esse mesmo potencial e avaliando somente a região de confinamento [89]. Esse aumento maior próximo à região hidrofílica também foi observado em nosso trabalho discutido na capítulo anterior- cuja publicação

encontra-se na referência [54]- onde é possível observar um aumento significativo ao redor dos aminoácidos hidrofílicos.

Não foi apresentada a  $g_{||}(r_{||})$  para o sistema de separação  $d^* = 10,0$ , pois, a estrutura da água para essa separação possui comportamento semelhante à discutida para a separação de  $d^* = 6,0$ .

Além de considerarmos a variação de temperatura, investigamos outras densidades para o sistema. Para tanto iremos estudar sistemas com  $L^* = 26,0$  e  $L^* = 28,0$ . Construímos o perfil de densidade variando a distância entre as placas. A figura 4.5 apresenta  $\rho^*(z)$  para as separações  $d^* = 3,0$ ,  $d^* = 6,0$  e  $d^* = 10,0$ , representadas, respectivamente, pelas letras (a), (b) e (c) e  $L^* = 26,0$ .

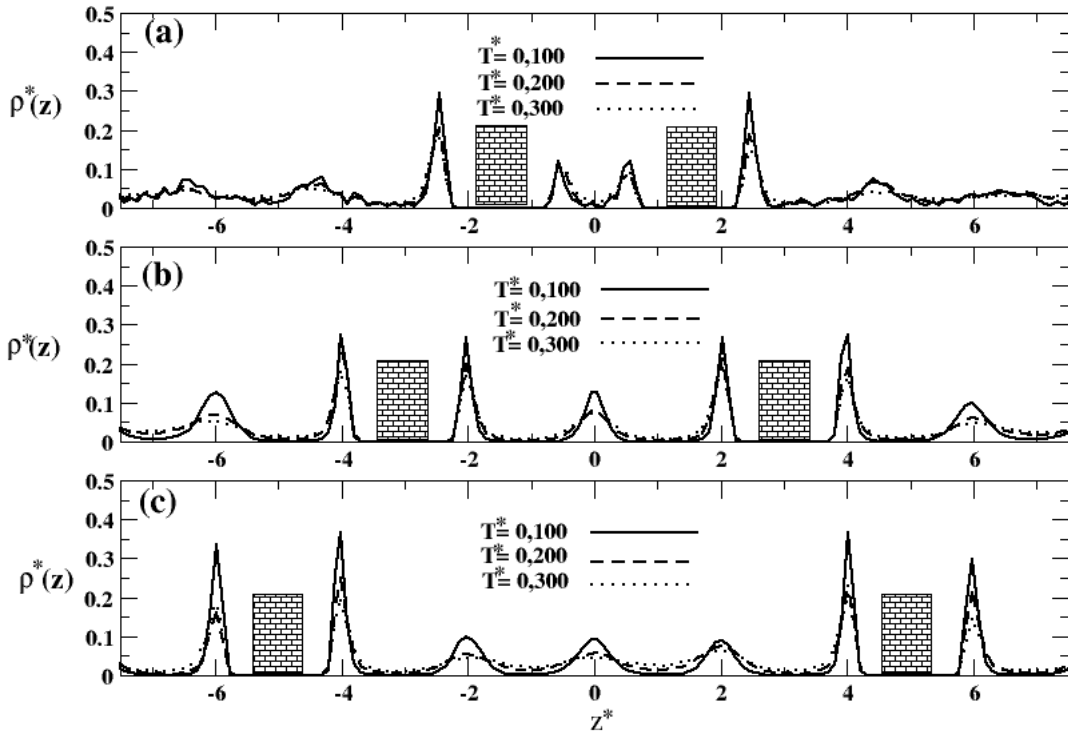


Figura 4.5: Corte em  $z^*$  dos perfis de densidade transversal para (a)  $d^* = 3,0$ , (b)  $d^* = 6,0$ , (c)  $d^* = 10,0$  para  $L^* = 26,0$  para placas paralelas hidrofílicas. As placas estão em  $z^* =$  (a)  $-1,5$  e  $1,5$ , (b)  $-3,0$  e  $3,0$  e (c)  $-5,0$  e  $5,0$ .

A figura 4.5 mostra o perfil de densidade para cada separação entre placas estudada. É possível observar na figura 4.5 (a) que as partículas se organizam em regiões mais próximas à placa. Tanto para a parte confinada quanto para a parte não confinada. Com a densidade maior na parte não confinada. Em (b) é possível observar a formação de uma camada central para a separação  $d^* = 6,0$  com as camadas de contato apresentando valores maiores para  $\rho^*(z)$ . Já para a separação  $d^* = 10,0$ , mostrado na figura 4.5 (c), ocorre a formação de três camadas centrais, além das camadas de contato.

Para o comprimento  $L^* = 26,0$ , conforme a temperatura diminui a densidade se torna maior para as camadas de contato e também para as camadas centrais. Também se observa que a densidade das camadas de contato é sempre maior do que a densidade das camadas centrais. Isso pode ser explicado pelo fato de ocorrer uma maior atração entre as placas e as partículas do tipo água e isso faz com que as partículas fiquem mais próximas da placa.

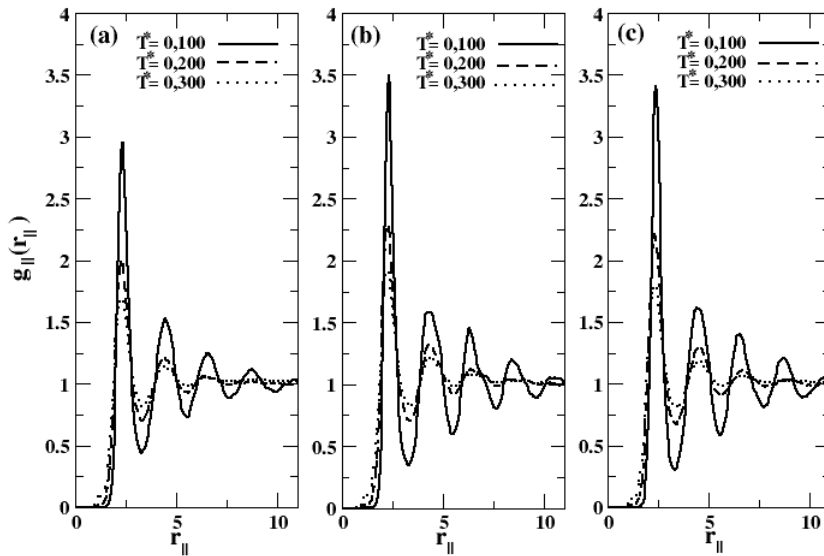


Figura 4.6:  $g_{\parallel}(r_{\parallel})$  para a uma camada (a) externa à placa, (b) para uma camada de contato na parte confinada e (c) para a camada central da configuração de  $d^* = 6,0$  e  $L^* = 26,0$  para placas paralelas hidrofílicas.

Para se avaliar a estrutura das partículas do tipo água para essa densidade, construímos a  $g_{\parallel}(r_{\parallel})$  para cada um dos sistema. Para simplificarmos nossos resultados, serão apresentados somente o comportamento do sistema com  $d^* = 6,0$  para  $L^* = 26,0$ .

A figura 4.6 representa os comportamentos de  $g_{\parallel}(r_{\parallel})$ , onde na parte (a) está representado o comportamento para a camada externa, em (b) a camada de contato da parte confinada e (c) a camada central para a distância  $d^* = 6,0$ . É possível observar que nos três casos o sistema se comporta como líquido, não havendo diferença para nenhuma das distâncias aqui estudadas. Também é evidente que conforme a temperatura é diminuída o primeiro pico da  $g_{\parallel}(r_{\parallel})$  torna-se maior.

A configuração de menor densidade, ou seja, com maior valor de  $L^*$  investigada, foi para  $L^* = 28,0$  diâmetros de partícula. A figura 4.7 apresenta o perfil de densidade para as diferentes separações entre as placas. Essas são as mesmas distâncias apresentadas anteriormente. Na parte (a) está representada a distância  $d^* = 3,0$ , em (b)  $d^* = 6,0$  e em (c)  $d^* = 10,0$ .

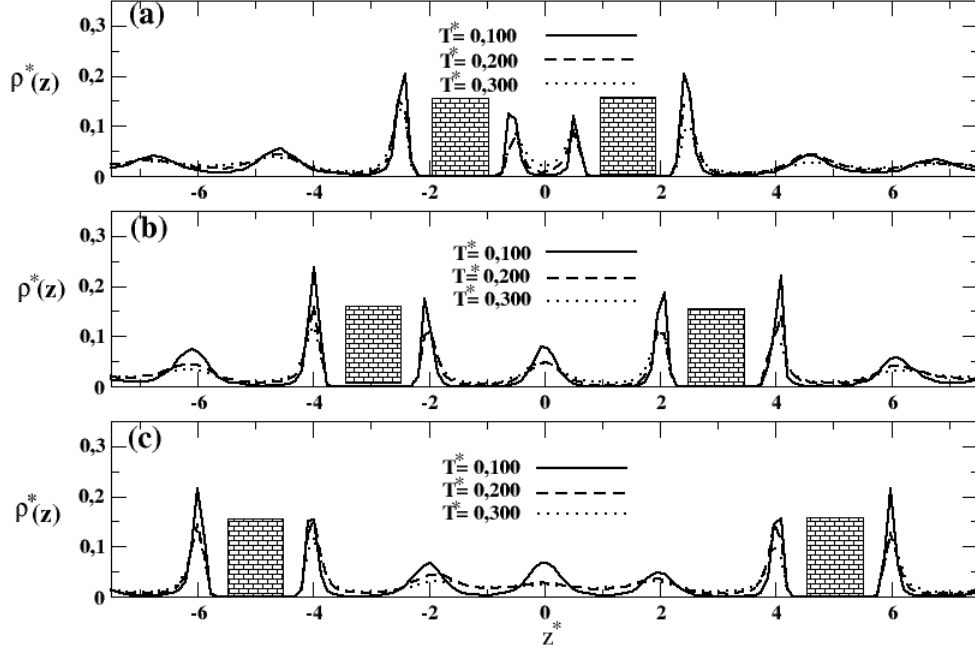


Figura 4.7: Corte dos perfis de densidade transversal para (a)  $d^* = 3,0$ , (b)  $d^* = 6,0$ , (c)  $d^* = 10,0$  para  $L^* = 28,0$  para placas paralelas hidrofílicas. As placas estão em  $z^* =$  (a)  $-1,5$  e  $1,5$ , (b)  $-3,0$  e  $3,0$  e (c)  $-5,0$  e  $5,0$ .

O comportamento observado para essa densidade é praticamente o mesmo ao observado para as densidades antes estudadas. Para menores afastamentos entre placas é evidente a formação de duas camadas de contato próximas às placas. Para a parte confinada e para a parte não confinada, onde a densidade apresenta maiores valores para a parte não confinada. Isso é evidente pois a região de confinamento nesse caso não é suficientemente grande para as partículas do tipo água se organizarem para formar as camadas de contato. Conforme a separação aumenta, a densidade entre a parte confinada e a parte não confinada das camadas de contato se tornam mais semelhantes.

Comparando com as outras duas densidades antes investigadas, os picos de densidade apresentam valores menores para a densidade de  $L^* = 28,0$ , pois o tamanho da caixa de simulação nesse caso é maior, fazendo com que as partículas do tipo água tenham um maior volume para ocupar na caixa de simulação, diminuindo assim os picos de densidade.

Analisando a estrutura da água para a separação de  $d^* = 6,0$ , a figura 4.8 (a) mostra a  $g_{||}(r_{||})$  para a camada próxima à placa na parte externa, enquanto que em (b) para a camada de contato na parte confinada e (c) está representada a camada de água central.

É possível observar que a medida que a temperatura diminui o primeiro pico da  $g_{||}(r_{||})$  torna-se maior. Para a camada externa, parte (a), a camada de partículas

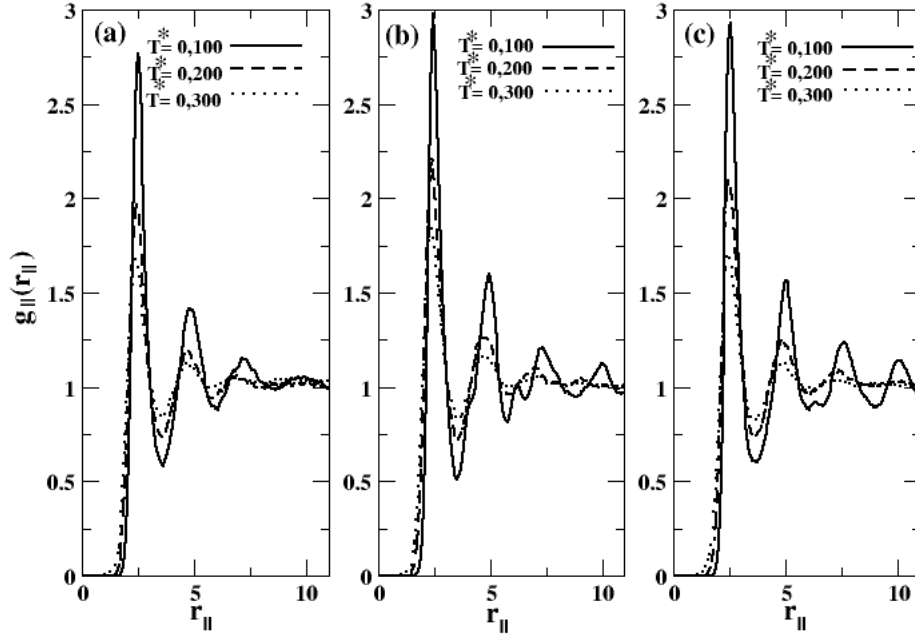


Figura 4.8:  $g_{||}(r_{||})$  versus  $z^*$  para a uma camada (a) externa à placa, (b) para uma camada de contato na parte confinada e (c) para a camada central da configuração de  $d^* = 6,0$  e  $L^* = 28,0$  para placas paralelas hidrofílicas.

tipo água apresenta um comportamento de líquido. Já para as partes (b) e (c) para as temperaturas de  $T^* = 0,200$  e  $T^* = 0,300$  as partículas apresentam um comportamento de líquido. Já para a temperatura de  $T^* = 0,100$  as partículas do tipo água passam a apresentar características de um amorfo. Esse comportamento se torna evidente, principalmente, pela diminuição do temperatura e também pelos efeitos de confinamento.

### 4.3 Placas hidrofóbicas imersas em água

Além de investigarmos um sistema com placas paralelas imersas em água, interagindo hidrofílicamente com partículas do tipo água, analisamos o comportamento de um sistema de placas paralelas imersas, interagindo hidrofobicamente com essas partículas. Os mesmos valores de  $L^*$  e  $d^*$  avaliados para o sistema hidrofílico foram considerados para o sistema hidrofóbico. Construímos o perfil de densidade para cada um desses casos e para obter informações acerca da estrutura das partículas do tipo água, calculamos a  $g_{||}(r_{||})$ . A interação entre as placas e as partículas do tipo água se dá via potencial WCA (potencial puramente hidrofóbico), discutido anteriormente no capítulo 2.

A figura 4.9 mostra os perfis de densidade para as distâncias  $d^* = 3,0$ ,  $d^* = 6,0$  e  $d^* = 10,0$  para o sistema com maior densidade, de comprimento de  $L^* = 24,0$ .

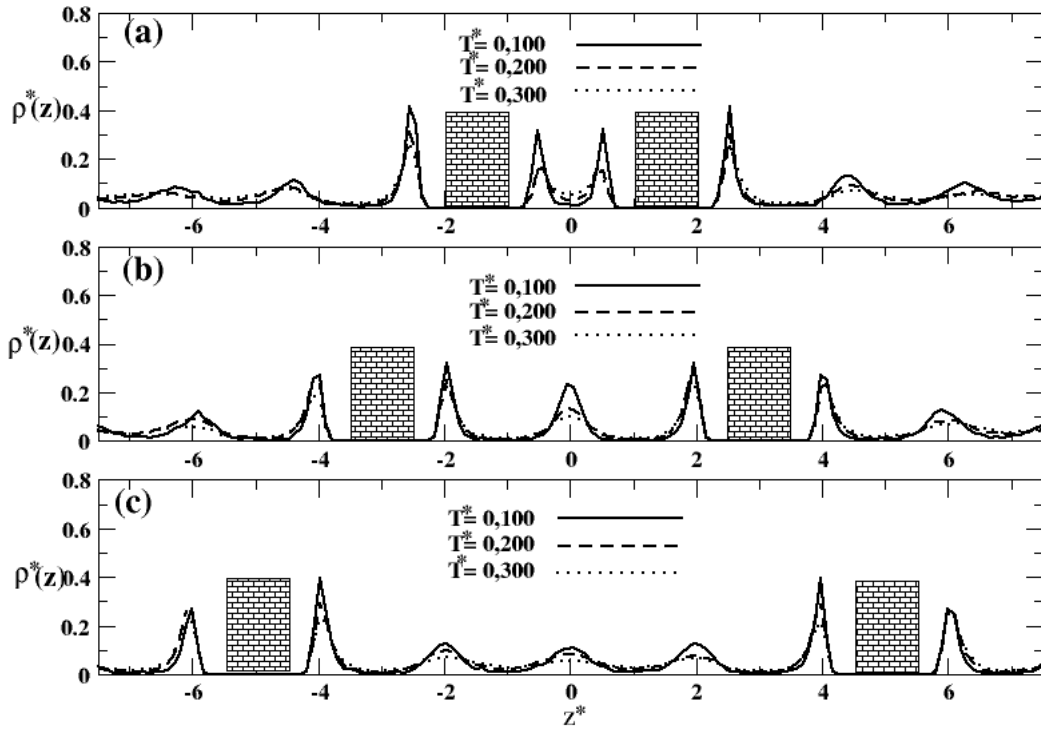


Figura 4.9: Cortes em  $z^*$  dos perfis de densidade transversal para (a)  $d^* = 3,0$ , (b)  $d^* = 6,0$ , (c)  $d^* = 10,0$  para  $L^* = 24,0$  para placas paralelas hidrofóbicas. As placas estão em  $z^*$  (a)  $-1,5$  e  $1,5$ , (b)  $-3,0$  e  $3,0$ , (c)  $-5,0$  e  $5,0$ .

É possível observar o mesmo comportamento para esses perfis de densidade (placas hidrofóbicas) quando comparados com os perfis de densidade para placas hidrofóbicas com a mesma densidade, discutidos na seção anterior. A formação de uma camada central para a distância  $d^* = 6,0$ , e de três camadas centrais para a distância  $d^* = 10,0$ , além das camadas de contato à placa. Conforme observado para o potencial atrativo, conforme se diminui a temperatura os picos de densidade tornam-se maiores. Sendo os picos de densidades maiores para as regiões próximas às placas.

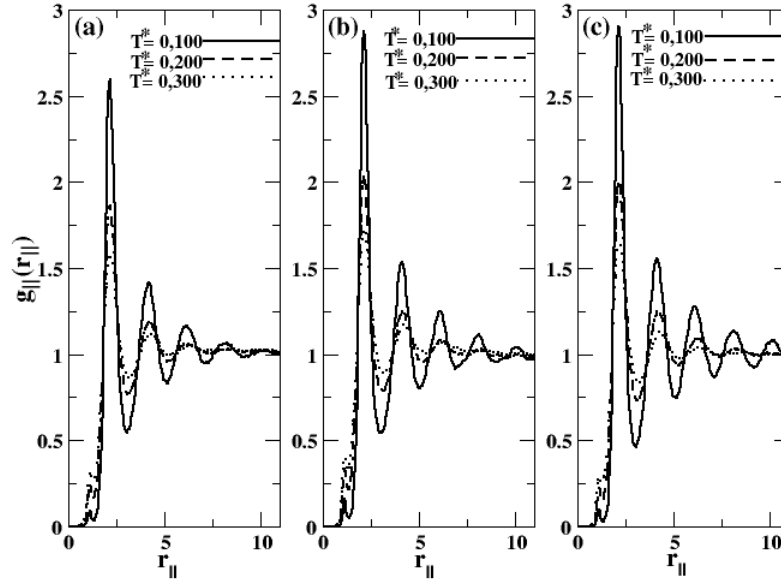


Figura 4.10:  $g_{||}(r_{||})$  versus  $z^*$  para a uma camada (a) externa à placa, (b) para uma camada de contato na parte confinada e (c) para a camada central da configuração de  $d^* = 6,0$  e  $L^* = 24,0$  para placas paralelas hidrofóbicas.

A figura 4.10 mostra a  $g_{||}(r_{||})$  para a distância  $d^* = 6,0$ ,  $L^* = 24,0$  para a placa hidrofóbica. Em (a) está representado a camada externa, em (b) a camada de contato da parte confinada e (c) a camada central. Nas três partes da figura 4.10 é possível observar no primeiro pico da  $g_{||}(r_{||})$  é maior para as menores temperaturas. Sendo que para as regiões confinadas ((b) e (c)) esses picos são maiores do que para a camada não confinada (a). É possível dizer que para as três diferentes temperaturas e as três diferentes camadas analisadas as partículas do tipo água têm comportamento como líquido.

Além de  $L^* = 24,0$  outros dois tamanhos de  $L^*$  foram estudados:  $L^* = 26,0$  e  $L^* = 28,0$ , como no caso anterior para as placas hidrofílicas.



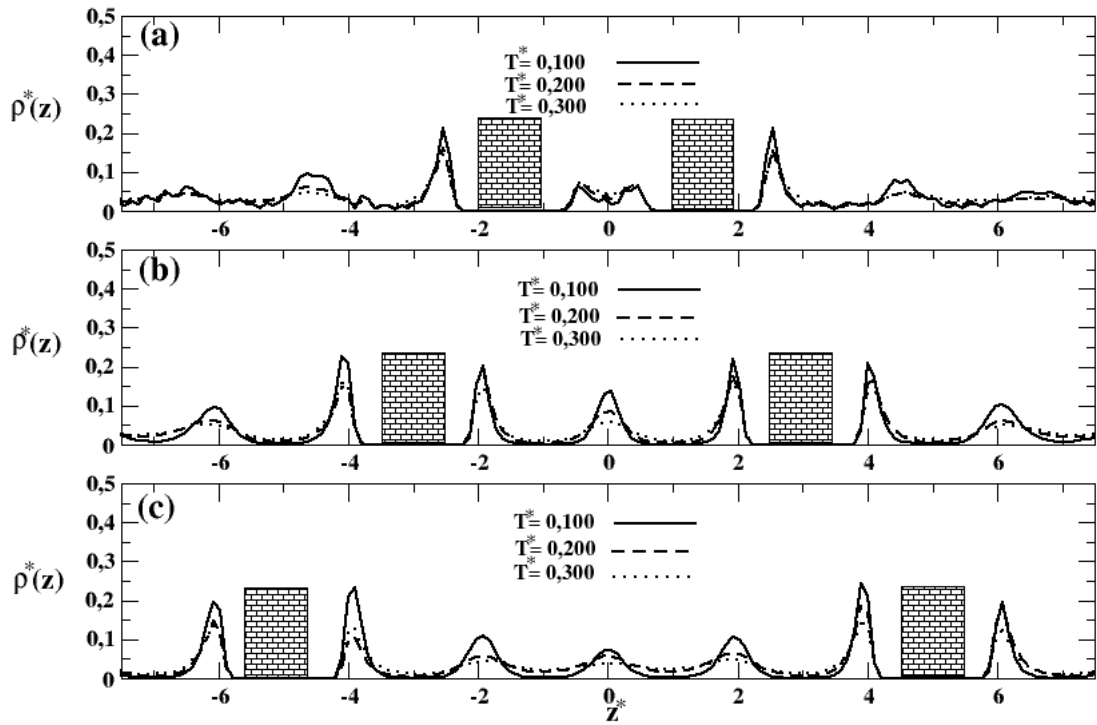


Figura 4.11: Cortes em  $z^*$  dos perfis de densidade transversal para (a)  $d^* = 3,0$ , (b)  $d^* = 6,0$ , (c)  $d^* = 10,0$  para  $L^* = 26,0$  para placas paralelas hidrofóbicas. As placas estão em  $z^* =$  (a)  $-1,5$  e  $1,5$ , (b)  $-3,0$  e  $3,0$  e (c)  $-5,0$  e  $5,0$ .

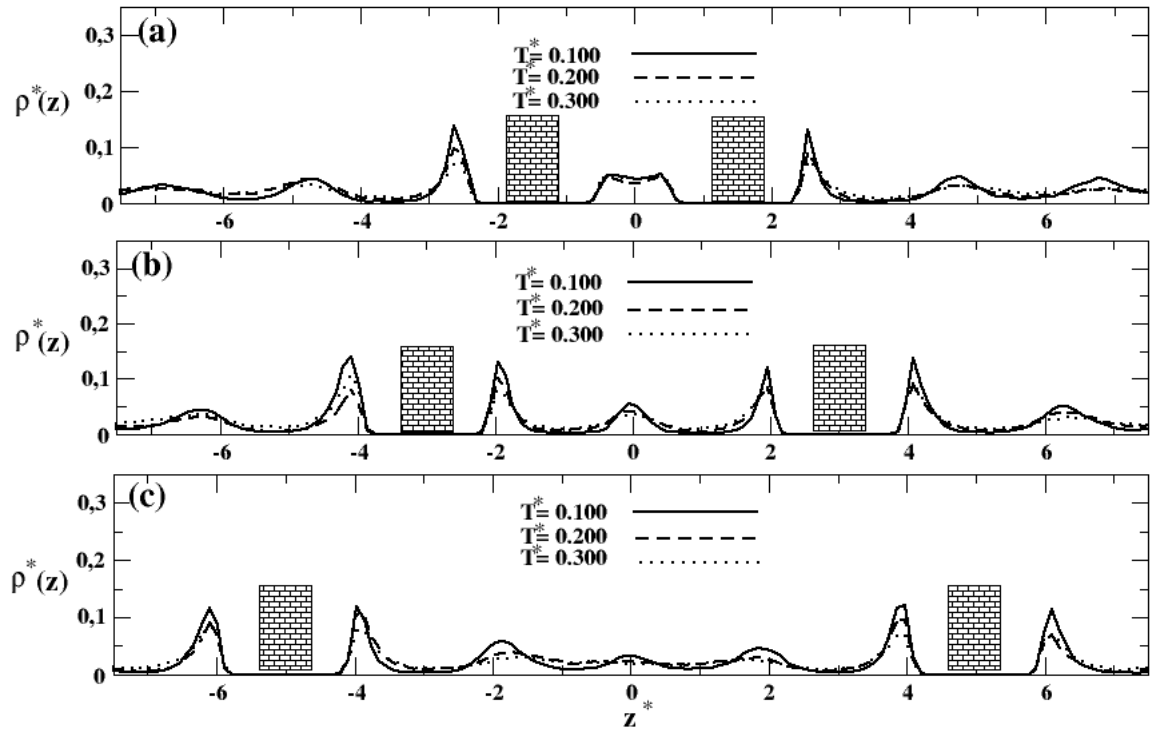


Figura 4.12: Cortes em  $z^*$  dos perfis de densidade transversal para (a)  $d^* = 3,0$ , (b)  $d^* = 6,0$ , (c)  $d^* = 10,0$  para  $L^* = 28,0$  para placas paralelas hidrofóbicas. As placas estão em  $z^* =$  (a)  $-1,5$  e  $1,5$ , (b)  $-3,0$  e  $3,0$  e (c)  $-5,0$  e  $5,0$ .

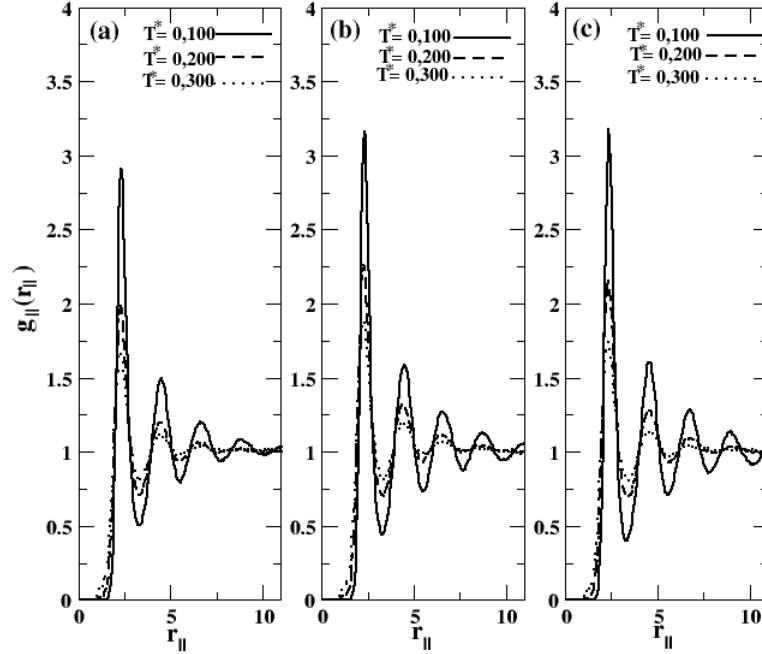


Figura 4.13:  $g_{\parallel}(r_{\parallel})$  versus  $z^*$  para a uma camada (a) externa à placa, (b) para uma camada de contato na parte confinada e (c) para a camada central da configuração de  $d^* = 6,0$  e  $L^* = 26,0$  em placas hidrofóbicas.

A figura 4.11 mostra o perfil de densidade para  $L^* = 26,0$  para as distâncias de separação de (a)  $d^* = 3,0$ , (b)  $d^* = 6,0$  e (c)  $d^* = 10,0$ . Em 4.12 está representado o perfil de densidade para  $L^* = 28,0$  e para as mesmas separações entre as placas para o caso de  $L^* = 26,0$ . O comportamento dessas duas configurações é praticamente o mesmo observado para o caso atrativo. No caso da separação de  $d^* = 6,0$  o sistema apresenta a formação das camadas de contato, além de uma camada central. Já para o caso de  $d^* = 10,0$  é possível observar três camadas centrais de menores valores de  $\rho^*(z)$ , comparando com as camadas de contato. Também é possível observar que as partículas têm a preferência de estar mais próximas à região das placas. Isso acontece tanto para a parte confinada quanto para a camada não confinada.

Na  $g_{\parallel}(r_{\parallel})$  da figura 4.13 está representado o comportamento para  $L^* = 26,0$  e  $d^* = 6,0$ . Foram estudados as  $g_{\parallel}(r_{\parallel})$  para as camadas das separações  $d^* = 3,0$  e  $d^* = 10,0$ , porém não serão aqui discutidos, pois para a separação  $d^* = 6,0$  está representado os mesmos comportamentos das camadas avaliadas nesses casos. É possível observar em 4.13 que a medida que a temperatura diminui o primeiro pico das partes (a), (b) e (c) aumenta conforme a temperatura é diminuída. E as camadas aqui avaliadas apresentam características de líquido.

Também cabe destacar que o comportamento para a placa puramente hidrofóbica é praticamente o mesmo quando comparado com a placa puramente hidrofílica. Ou seja, as partículas do tipo água tendem a formar camadas de maior densidade próxima às placas paralelas. Aumentando essa densidade conforme a temperatura

é diminuída.

## 4.4 Placas heterogêneas imersas em água

Uma vez estudado o sistema com placas paralelas homogêneas (somente hidrofóbica ou somente hidrofílica), investigamos também um sistema com placas paralelas heterogêneas, ou seja, composta por regiões que interagem de maneira hidrofílica e regiões que interagem de maneira hidrofóbica com as partículas do tipo água. Os dois potenciais de interação utilizados nessa parte foram os mesmo utilizados para as placas homogêneas: o potencial WCA (hidrofóbico) e o potencial SAT (hidrofílico).

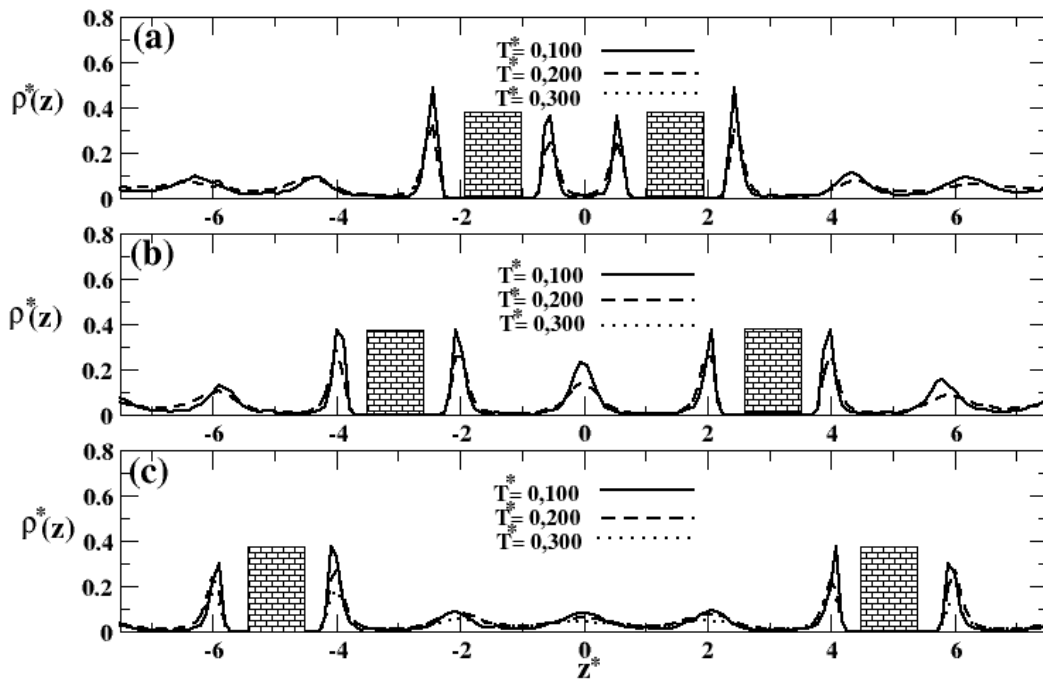


Figura 4.14: Cortes em  $z^*$  dos perfis de densidade transversal para (a)  $d^* = 3, 0$ , (b)  $d^* = 6, 0$ , (c)  $d^* = 10, 0$  para  $L^* = 24, 0$  para placas paralelas heterogêneas.

Para construirmos as placas heterogêneas, selecionamos algumas das partículas da placa e definimos o tipo de interação que essa realiza com as partículas do tipo água. Em um primeiro momento, selecionamos 45 partículas aleatoriamente (20%) de cada uma das placas e denominamos o tipo de interação como hidrofóbico.

Realizamos o mesmo tipo de análise nas placas heterogêneas ao realizado anteriormente para as placas homogêneas. Ou seja, avaliamos o perfil de densidade para diferentes tamanhos de caixa de simulação e também diferentes temperaturas.

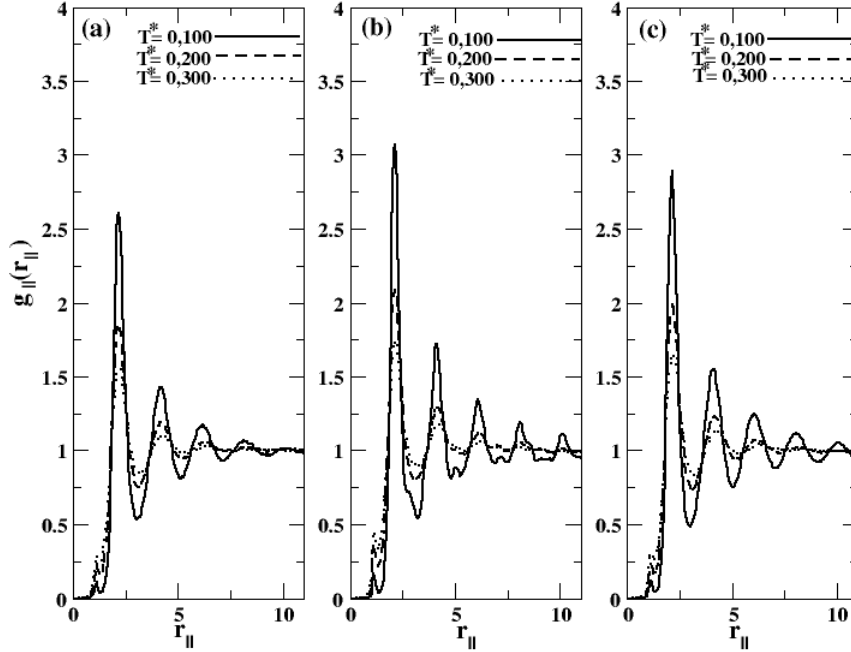


Figura 4.15:  $g_{\parallel}(r_{\parallel})$  versus  $z^*$  para a uma camada (a) externa à placa, (b) para uma camada de contato na parte confinada e (c) para a camada central da configuração de  $d^* = 6,0$  e  $L^* = 24,0$  em placas heterogêneas.

Também avaliamos os efeitos nas partículas do tipo água de se diminuir a separação entre as placas paralelas. Os valores para  $L^*$  e  $d^*$  foram os mesmos apresentados nas seções anteriores.

A primeira configuração estudada foi para  $L^* = 24,0$ , ou seja, a configuração de maior densidade. A figura 4.14 mostra os perfis de densidade para essa configuração. Podemos observar a mesma estruturação das camadas de água ao observado para as placas homogêneas. Os valores de  $\rho^*(z)$  são aproximados aos observados para a interação das partículas do tipo água com as placas hidrofílicas.

Na figura 4.15 está representada a  $g_{\parallel}(r_{\parallel})$  para  $L^* = 24,0$  e  $d^* = 6,0$ . As partículas do tipo água apresentam uma estruturação em camadas, onde em (a) está representada a camada externa próxima à placa, em (b) a camada de contato na parte confinada e em (c) a camada central. Para a camada de contato na parte confinada o primeiro pico da  $g_{\parallel}(r_{\parallel})$  é maior comparado com as outras camadas, sendo esse pico maior para menores temperaturas.

Comparando o sistema de placas mistas com os sistemas anteriormente estudados (placas hidrofílicas e hidrofóbicas) é possível observar um comportamento similar para os perfis de densidade. Os valores de  $\rho^*(z)$  para o sistema com placas mistas têm, aproximadamente, os mesmos valores encontrados para as placas hidrofílicas. Isso possivelmente ocorra devido ao fato de o sistema estudado ser composto de aproximadamente 20% das placas hidrofóbicas. Ou seja, a maioria da placa tendo

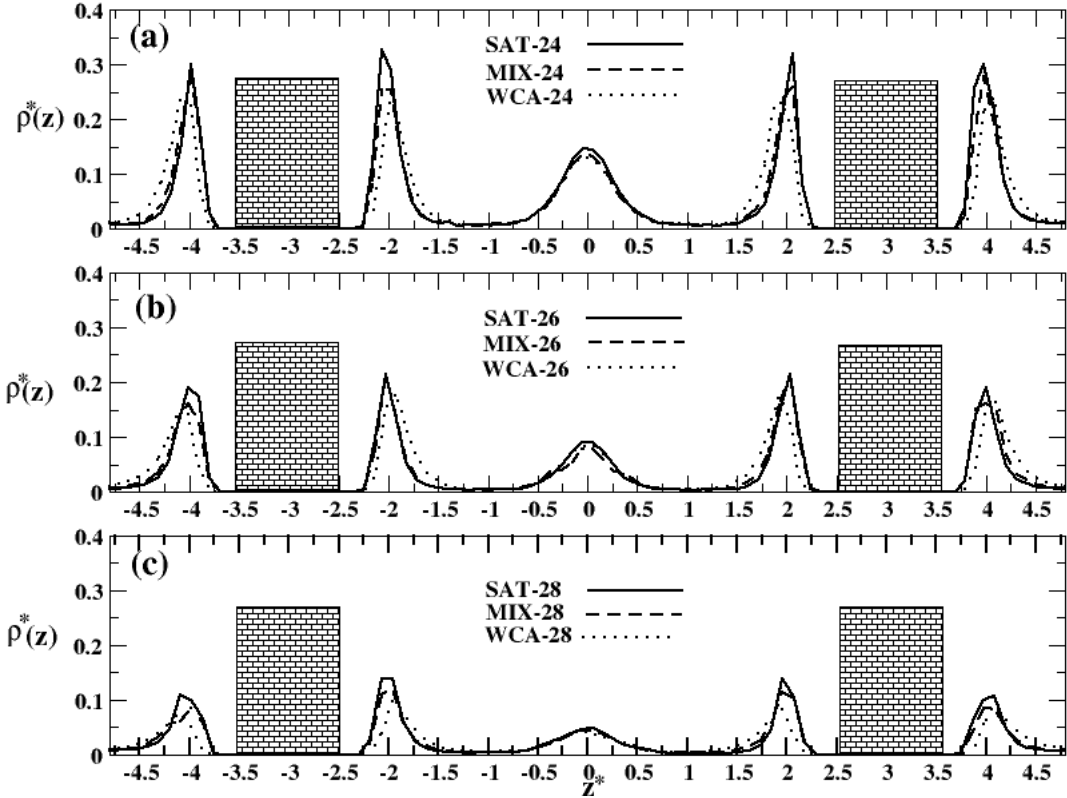


Figura 4.16: Cortes em  $z^*$  dos perfis de densidade transversal para (a)  $L^* = 24, 0$ , (b)  $L^* = 26, 0$ , (c)  $L^* = 28, 0$  para  $d^* = 6, 0$  para placas paralelas com diferentes tipos de interações. Os símbolos SAT, MIX e WCA, representam as interações hidrofílicas, mistas e hidrofóbicas, respectivamente.

comportamento hidrofílico, faz com que o sistema misto (com essa porcentagem de regiões hidrofílicas e hidrofóbicas) tenha, praticamente, os mesmos valores de  $\rho^*(z)$  do que as placas hidrofílicas.

Para se avaliar a influência da interação das placas com o fluido do tipo água, construímos os perfis de densidade para uma mesma temperatura ( $T^* = 0, 200$ ), mesma separação de  $d^* = 6, 0$  e diferentes  $L^*$ . Na figura 4.16 estão representados esses perfis. Em (a) para  $L^* = 24, 0$ , em (b) para  $L^* = 26, 0$  e (c) para  $L^* = 28, 0$  para a mesma temperatura e  $d^*$ .

Podemos observar que para  $L^* = 24, 0$  e  $L^* = 26, 0$  os picos para as três diferentes interações não se diferencia significativamente um do outro. Uma maior evidência é observado para  $L^* = 28, 0$ , onde a densidade é maior para a interação hidrofílica, seguida pela interação mista.

## 4.5 Resumo do capítulo

Neste capítulo apresentamos um modelo mínimo para a interação da proteína com a água. Estudamos através de um modelo com placas paralelas, dois diferentes

tipos de interações dessas placas com a água. As interações hidrofílicas e hidrofóbicas. Conforme observado para o modelo atomístico para a proteína, de acordo com que a temperatura é diminuída a densidade da água aumenta. Com um maior aumento próximo à região hidrofílica do que na região hidrofóbica. Indicando que a partir de um modelo mínimo, também é possível obter resultados semelhantes àqueles obtidos para modelos mais complexos como os modelos atomísticos.

Os resultados obtidos nesse capítulo foram submetidos para publicação na revista *Journal of Condensed Matter*.

# Capítulo 5

## Conclusões

Nesse trabalho, estudamos a influência de uma proteína nas propriedades da água. Utilizamos para a implementação da dinâmica molecular de um sistema com uma proteína hidratada, o pacote GROMACS. Primeiramente, analisamos a densidade da água na presença da proteína TS-Kappa. Observamos um valor máximo de densidade para o sistema *bulk* coerente com o observado em outros trabalhos. Quando a proteína é inserida no sistema um máximo valor de densidade ainda é observado, porém, para temperaturas menores do que o observado no *bulk*. Além da densidade da água, também investigamos o número de ligações de hidrogênio entre as moléculas de água. Inicialmente para o sistema puro e depois para o sistema com a proteína hidratada. Observamos que o número de ligações de hidrogênio diminui conforme a temperatura é diminuída. E também observamos que o número de ligações de hidrogênio água-água é maior para o sistema puro do que para o sistema com proteína. Isso se deve ao fato de as moléculas de água próximas à superfície da proteína realizarem ligações de hidrogênio, além das moléculas de água vizinhas, com a superfície hidrofílica da proteína.

Devido a essa diferença de densidade e a diferença entre o número de ligações de hidrogênio água-água para os sistemas *bulk* e o sistema com a proteína, calculamos, assim, a densidade da água e o número de ligações de hidrogênio próximas à superfície da TS-Kappa. Dividimos a superfície da proteína em trinta e cinco diferentes regiões, sendo cada uma dessas regiões correspondentes a cada aminoácido da proteína. Observamos que conforme a temperatura diminui a densidade da água aumenta. Não apresenta mais um comportamento anômalo como visto anteriormente. Agora, a água apresenta um comportamento monotônico com a temperatura. Tanto para as regiões hidrofílicas, como para as regiões hidrofóbicas. E para baixas temperaturas é possível observar, ainda, que a densidade da água próxima à TS-Kappa apresenta valores maiores do que no *bulk*. Esse aumento na densidade da água, está associado ao fato de a proteína possuir uma grande quantidade de aminoácidos hidrofílicos que faz com que a água seja atraída para a superfície da proteína.

Analisando a densidade da água nas diferentes regiões, observamos que a densidade é maior próxima à região hidrofílica do que na região hidrofóbica. Isso se deve ao fato de a água próxima a essas regiões, além de se ligar entre si, realiza ligações com a região hidrofílica da TS-Kappa. Como consequência, rompe ligações



de hidrogênio água-água fazendo com que a água fique mais compacta nessa região.

Para as ligações de hidrogênio água-água, observamos também que esse número aumenta conforme a temperatura diminui. Porém esse número é menor para a água na primeira camada de hidratação do que no *bulk*. Podemos associar esse fenômeno ao fato de a proteína, agora, realizar também ligações com a superfície hidrofílica da biomolécula. E por conseguinte, o número de ligações de hidrogênio água-água é maior entre as moléculas de água próximas à região hidrofóbica do que as moléculas de água próximas às regiões hidrofílicas.

Para compreendermos melhor o comportamento da água nessa região, avaliamos ainda a difusão das moléculas de água da primeira camada de hidratação. Observamos que a medida que a temperatura diminui, a difusão da água também diminui, sendo a difusão da água nessa região menor do que no *bulk*. Comparando a difusão da água para as diferentes regiões da proteína, observamos que a difusão próxima à superfície hidrofóbica é, ligeiramente, maior do que a difusão da água próxima à região hidrofílica. Podemos associar esse fato, às moléculas de água estarem realizando ligações de hidrogênio com as moléculas de água vizinhas, além de se conectar com a superfície da proteína na região hidrofílica. Isso faz com que essas fiquem com menor liberdade para difundir nessa região.

Com a ideia de entender os efeitos da proteína na difusão das moléculas de água localizadas em diferentes regiões do sistema em estudo, calculamos a difusão para região mais afastadas da proteína. É possível observar que a difusão da água depende, não apenas, da distância que essa se encontra de uma proteína, mas também da temperatura do sistema. Observamos que para temperaturas baixas ( $T = 180K$  e  $T = 350K$ ) e temperaturas mais elevadas, a difusão da água não possui significativa mudança nem em regiões próximas à proteína, nem em regiões mais afastadas (água *bulk*). Já para as temperaturas intermediárias ( $T = 220K$ ,  $T = 260K$  e  $T = 290K$ ) os efeitos da proteína já são mais percebidos pelas moléculas de água. A medida que aproximamos nossa análise da superfície da proteína, os valores de difusão da água diminuem. Isso indica que a água está ficando mais conectada com a superfície da proteína, conseqüentemente, mais estruturada, conforme havíamos observado para a densidade e para as ligações de hidrogênio da água nessa região.

Com o objetivo de compreender os efeitos de uma proteína na água, estudamos também um modelo mínimo para as interações de uma proteína com as moléculas de água. Para aproximar nosso sistema de uma proteína, consideramos um sistema com placas paralelas imersas em fluido do tipo-água. Essas placas interagem de dois diferentes tipos com as partículas do tipo-água: hidrofílica e hidrofobicamente. Conforme já havíamos observado para o modelo atomístico, a medida que a temperatura diminui, a densidade da água aumenta. Para o modelo atomístico, analisamos as ligações de hidrogênio e a difusão da água e, assim, concluímos que a água está mais estruturada na região da primeira camada de solvatação. Para melhor entender a estrutura da água nesse modelo com placas paralelas, calculamos a função de distribuição radial das moléculas de água para diferentes regiões do sistema: parte confinada e parte não confinada. Observamos que a água se torna mais estruturada para a parte confinada do sistema e que isso é mais evidente para baixas temperaturas.

As características observadas nessa parte da tese, tais como o aumento mais acentuado para as água próximas à região hidrofílica do que para as águas próximas à região hidrofóbica da placa, maior estruturação das águas para baixa temperaturas e nas regiões próximas às macromoléculas hidrofílicas e hidrofóbicas, indicam que, a partir de um modelo mínimo, é possível obter resultados semelhantes aos obtidos para modelos mais complexos, como é o caso do sistema envolvendo a TS-Kappa imersa em água.

# Apêndice A

## Modelos Clássicos para a água

Dentre os vários modelos de água encontrados na literatura, serão aqui brevemente descritos apenas dois. Os modelos que foram estudados nesse trabalho são o modelo SPC/E [17] ('Simple Point Charge/Extended') e o modelo TIP4P-2005 [69] ('Transferable Intermolecular Potential of 4 points').

O modelo SPC/E é representado por três sítios de cargas. Uma dessas cargas, carregada negativamente  $q_2$ , que representa o átomo de oxigênio de uma molécula de água. Enquanto que os outros dois sítios, representando os átomos de hidrogênio da molécula, são carregadas positivamente e são representadas por  $q_1$ .

Para melhor compreender a geometria desses modelos de água, construímos a figura A.1, onde se encontram representados os esquemas dos modelos aqui estudados.

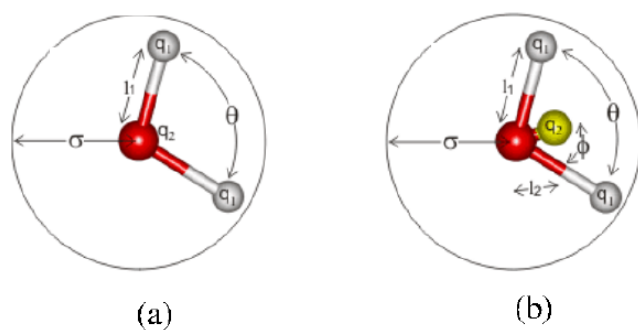


Figura A.1: Na Figura (a) está representada a geometria do modelo de água SPC/E, enquanto que na figura (b) está representada a geometria para o modelo TIP4P-2005. Nesses casos  $\sigma$  representa um raio médio da molécula de água em cada caso.

Os modelos de quatro sítios, como é o caso do TIP4P-2005, possuem quatro interações, onde é colocado um átomo ao longo da bissetriz do ângulo HOH. Sendo esse ângulo formado pelo átomos anteriormente descritos para os modelos de três sítios.

O modelo TIP4P-2005 é uma reparametrização do modelo TIP4P [97] e é representado por quatro sítios, sendo dois positivos e um negativo  $q_2$ . Nesses dois modelos

os átomos de oxigênio interagem entre si via potencial de Lennard Jones (LJ), já os sítios carregados interagem entre si via potencial coulombiano.

A interação entre duas moléculas  $a$  e  $b$  pode ser representada por A.1.

$$E_{a,b} = \sum_{i,j} \frac{q_i q_j}{r_{i,j}} - 4\epsilon \left[ \left( \frac{\sigma}{r} \right)^{12} - \left( \frac{\sigma}{r} \right)^6 \right] \quad (\text{A.1})$$

O que irá diferenciar um modelo de outro, além da estrutura, será a parametrização desses. Para os três modelos aqui estudados, os parâmetros são encontrados na tabela A.1.

| Modelo     | $\sigma(\text{\AA})$ | $\epsilon(kJmol^{-1})$ | $l_1(\text{\AA})$ | $l_2(\text{\AA})$ | $q_1(e)$ | $q_2(e)$ |
|------------|----------------------|------------------------|-------------------|-------------------|----------|----------|
| SPC/E      | 3,166                | 0,6500                 | 1                 | -                 | + 0,4238 | -0,8476  |
| TIP4P-2005 | 3,1589               | 0,7749                 | 0,9664            | 0,15555           | +0,5564  | -1,1128  |

O modelo SPC/E é uma reparametrização do modelo SPC, a modificação ocorre no valor da carga do átomo de oxigênio. O modelo original é oriundo de uma série de simulações de dinâmica molecular. E, ao se comparar com o modelo original, o modelo SPC/E apresenta valores aprimorados para a  $g(r)$  e difusão para resultados experimentais.

A figura A.3 mostra um diagrama de fases  $P \times T$  para resultados experimentais, mostrado na figura (a) e para resultados teóricos para o modelo de água SPC/E, mostrado na figura (b). É possível observar nesses diagramas dois tipo de anomalias: anomalia na densidade e anomalia na difusão. Em (a) os pontos representados pelos quadrados, são referentes aos valores de máximo na difusão e os círculos fechados representam os valores de máxima densidade.

Em (b) observamos que os dados de simulação apresentam resultados para pressões negativas, o que não pode ser visto para os dados experimentais, conforme havia sido discutido no capítulo 1 dessa tese. Também é mostrado aqui, a hierarquia de anomalias. Onde os valores de máximo e mínimo na difusão (quadrados fechados) englobam os valores de máxima densidade (círculos fechados). Embora seja boa a avaliação qualitativa, esses resultados suprimem os valores de temperatura da água.

Já o modelo TIP4P-2005 apresenta características importantes, quando comparadas com os resultados observados em experimentos [69]. Como, por exemplo, a anomalia na densidade da água, onde verifica-se que em  $5^\circ C$ , o sistema apresenta um o valor de máximo na densidade, o que é uma boa comparação quantitativa com os resultados experimentais da água, que acontece em  $4^\circ C$ . Esses resultados para o modelo TIP4P-2005 podem ser encontrados na figura A.2 .

Mesmo descrevendo de maneira satisfatória algumas das anomalias da água, outros modelos para descrever as anomalias da água têm sido utilizados. O avanço dos modelos efetivos para simular sistemas do tipo água têm sido amplamente investigados, devido sua abrangência para modelos mais universais e também devido a sua simplicidade. Os modelos efetivos apresentam concordância qualitativa com resultados já observados experimental e também com resultados observados para modelos atomísticos. Uma melhor descrição dessas modelos pode ser encontrado no capítulo 2 dessa tese.

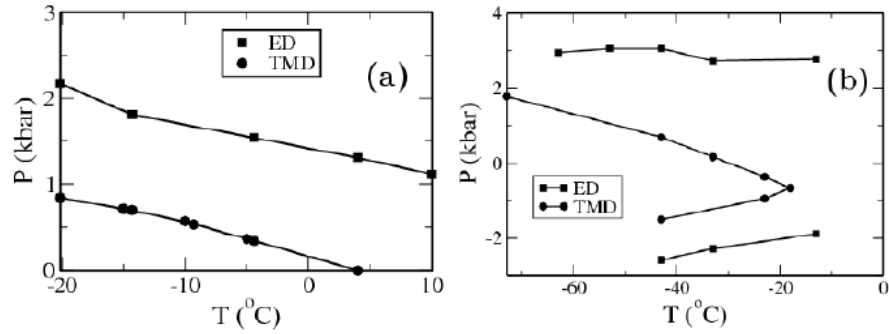


Figura A.2: Na Figura (a) está representada a curva representando os dados experimentais da linha de TMD e o máximo na difusão [18], já em (b) está representado o diagrama de  $P \times T$  para o modelo SPC/E, adaptado de Netz *et. al* [19].

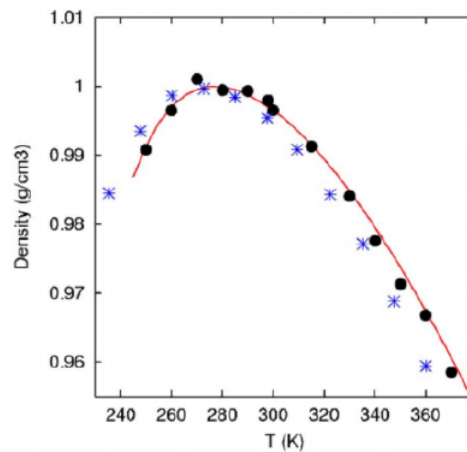


Figura A.3: Resultados teóricos para valores de densidade da água do tipo TIP4P-2005. É possível observar uma TMD em torno de  $5^{\circ}\text{C}$  [69]. Os círculos representam o modelo TIP4P-2005 a  $P = 1\text{atm}$ . A curva em azul é referente ao modelo TIP4P/Ew [98] e a linha cheia representa os dados experimentais.

# Apêndice B

## Campos de Forças da Proteína

A escolha de um ou de outro campo de forças irá depender do sistema a ser estudado. Nesse trabalho foram utilizados os campos de forças OPLS/AA [99], quando os modelos SPC/E e TIP3P foram implementados, e também o campo de forças Amber ff03W [100] para descrever as interações entre os átomos da proteína e a água para o modelo TIP4P-2005.

Os potenciais podem ser divididos em três grupos: potenciais intermoleculares, potenciais intramoleculares e vínculos.

As interações intermoleculares são representados, geralmente, pelo potencial de Lennard-Jones e também pela energia potencial eletrostática.

### B.0.1 Potencial de Lennard-Jones

O potencial de Lennard-Jones entre dois átomos iguais é dado por:

$$V_{LJ}(r_{ij}) = \frac{C_{ij}^{(12)}}{r_{ij}^{12}} - \frac{C_{ij}^{(6)}}{r_{ij}^6} \quad (\text{B.1})$$

onde esse potencial é composto por um termo atrativo e um termo repulsivo, onde para cada átomo  $i$  é calculada a energia de interação com um átomo  $j$ . Os parâmetros  $C_{ij}^{12}$  e  $C_{ij}^6$  irão depender dos átomos que estão envolvidos na interação, enquanto que  $r_{ij}$  é a distância entre esses átomos.

### B.0.2 Energia Potencial Eletrostática

No caso da energia potencial eletrostática a representação se dá pelo potencial de Coulomb, de acordo com a equação B.2.

$$V_c = \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0\epsilon_r r_{ij}} \quad (\text{B.2})$$

onde  $q_{ij}$  representam as cargas dos átomos  $i$  e  $j$  respectivamente.  $\epsilon_0$  representa a permissividade elétrica no vácuo e  $\epsilon_r$  representa a constante dielétrica no meio, já  $r_{ij}$  representa a distância entre os átomos  $i$  e  $j$ .

### B.0.3 Potencial Harmônico Linear

Para representar o movimento vibracional entre dois átomos (átomo  $i$  e átomo  $j$ ) utiliza-se um potencial harmônico linear de acordo com a equação B.3, que é uma expressão que representa um sistema que obedece a lei de Hooke em sistema ligados por molas. Onde podemos representar  $K$  como a constante de Hooke,  $r_0$  é o comprimento da ligação e  $r$  é o comprimento de equilíbrio da ligação.

$$V = \frac{1}{2}K(r - r_0)^2 \quad (\text{B.3})$$

### B.0.4 Potencial Harmônico Angular

Já para representar o ângulo formado entre três átomos ligados, ou seja, átomos  $i$ ,  $j$  e  $k$ , utiliza-se um potencial harmônico angular, de acordo com a equação B.4, sendo  $K$  a constante de Hooke,  $\theta$  o ângulo entre as ligações e  $\theta_0$  o ângulo final de equilíbrio.

$$V = \frac{1}{2}K(\theta - \theta_0)^2 \quad (\text{B.4})$$

### B.0.5 Potencial Diedros Impróprios

São utilizados para manter o grupos planares, como por exemplo anéis aromáticos, em seus planos. Entre quatro átomos existirá a formação de uma estrutura tridimensional descrita por esse potencial harmônico, chamado de diédros impróprios. A equação que representa esse potencial pode ser vista na equação B.5. Esse potencial controla o ângulo entre os átomos envolvidos na estrutura.

$$V = \frac{1}{2}K(\xi - \xi_0)^2 \quad (\text{B.5})$$

onde  $K$  é a constante de Hooke,  $\xi$  é o ângulo entre os planos e  $\xi_0$  é o ângulo de equilíbrio.

### B.0.6 Potencial Diedros Próprios

A rotação em torno de uma ligação química pode ser caracterizada por um potencial de torção, chamado de potencial de diédro próprio, que pode ser representado de acordo com a equação B.6.

$$V = K[1 + \cos(n\varphi - \delta)] \quad (\text{B.6})$$

onde  $K$  define a altura da barreira de rotação,  $n$  é o número de mínimos da função,  $\varphi$  é a variação angular e  $\delta$  é o ângulo de diferença de fase, ou seja,  $180^\circ$  ou  $0^\circ$ .

## B.0.7 Energia Potencial Total

Com isso, a energia potencial total poderá ser escrita como a soma dos potenciais descritos anteriormente, ou seja:

$$V(r_i) = \sum_{n=1}^N \frac{1}{2} K(r - r_0)^2 + \sum_{n=1}^N \frac{1}{2} K(\theta - \theta_0)^2 + \sum_{n=1}^N K(\xi - \xi_0)^2 + \sum_{n=1}^N K[1 + \cos(n.\varphi - \delta)] + \sum_{i<j}^N \frac{C_{ij}^{(12)}}{r_{ij}^{12}} - \frac{C_{ij}^{(6)}}{r_{ij}^6} + \sum_{i<j}^N \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0\epsilon_r r_{ij}}$$

onde os três primeiros termos estão relacionados aos potenciais que descrevem as interações intermoleculares. Já o quarto termo representa o potencial de torção sobre todos os ângulos diedrais próprios. O termo seguinte na equação refere-se aos potenciais de van der Waals e Coulomb relativos aos átomos  $i$  e  $j$ , levando em consideração as interações de primeiros e segundos vizinhos. Os parâmetros descritos na equação B.7 pode ser obtido na literatura para o sistema analisado em questão.

## B.1 OPLS-AA

Os campos de forças vêm evoluindo desde que os estudos em bioinformática começaram. Esses campos vêm sendo adaptados de acordo com o sistema a ser estudado, como por exemplo, carboidratos [101], proteínas [102]. Também vem sendo possível verificar sua eficácia em relação ao experimento, como mostra o trabalho de [103].

O campo de forças OPLS-aa apresenta características bastante similares a outros campos de forças, como o Amber96 [104] e o Charmm22 [105].

Vários conjuntos de parâmetros OPLS já foram estudados. Por exemplo, existe o OPLS-ua (*united atom*), que inclui os átomos de hidrogênio próximo aos átomos de carbono implicitamente nos parâmetros de carbono.

Uma outra variação desse campo de forças é o chamado OPLS-aa (*all atoms*), que inclui todos átomos do sistema de maneira explícita. Outros estudos incluem parâmetros para outros grupos funcionais e outro tipos de moléculas, tais como carboidratos. As simulações em soluções aquosa envolvendo esse campo de força geralmente utilizam os modelos de água TIP4P, TIP3P e SPC/E.

Os parâmetros desse campo de força possuem uma característica bem específica: são otimizados afim de se ajustar as propriedades experimentais dos líquidos, como por exemplo: densidade e calor de vaporização.

Com isso, quando foi utilizado o sistema com a proteína hidratada, o campo de força utilizado foi o OPLS-AA.



## B.2 Amber ff03W

O Amber, do inglês (*Assisted model building with energy refinement*) é, além de um campo de forças, também um programa que resolve problemas de dinâmica molecular. O campo de força foi parametrizado especificamente para proteínas e ácidos nucleicos.

O termo Amber se refere a uma quantidade de campos de forças utilizados para diferentes sistemas físicos. Porém esses sistemas físicos apresentam o mesmo tipo de potencial (mostrado na equação B.7), porém, para cada sistema físico utiliza-se uma determinada variação desse campo de força Amber, que irá se diferenciar apenas pelos valores dos parâmetros.

O campo de forças Amber *ff03* é uma modificação de outros campos do Amber já conhecidos, como por exemplo o *ff99*. Dentre as principais alterações pode-se destacar que as cargas são agora derivadas de cálculos quânticos que usam um meio dielétrico contínuo para se assemelhar a polarização do solvente. Onde os termos referentes à torção são modificados. Essas mudanças são encontradas principalmente para proteínas, pois para ácidos nucleicos esses valores são os mesmos para o *ff99*.

O potencial Amber baseia-se de acordo com a equação B.7 onde os dois primeiros termos do potencial sugerem formas quadráticas na forma da Lei de Hooke. Com isso, o parâmetro  $K$  está associado à constante de força e  $r$  é o comprimento de equilíbrio da ligação. De maneira análoga,  $K$  pode ser também a constante de força associada referente as deformações angulares e  $\theta$  é o ângulo de equilíbrio das ligações. Com isso, as variáveis  $r$  e  $\theta$  têm seus valores definidos de acordo com a força aplicada sobre os átomos envolvidos.

Com isso, nesse trabalho foi utilizado também o campo de força do tipo Amber *ff03w*, que é, segundo o trabalho [106] é o melhor campo de forças a ser utilizado para o modelo de água do tipo TIP4P-2005. Esse campo de força é uma reparametrização do modelo *ff03* e outros modelos do tipo Amber.

# Apêndice C

## Dinâmica Molecular Clássica

Partindo de um dado potencial de interação entre as partículas  $V_{r_{ij}}$ , a interação entre a partícula  $i$  e  $j$  pode ser escrita como:

$$\mathbf{F}_{ij} = \nabla V_{r_{ij}} \quad (\text{C.1})$$

Para tornar-se mais didático o processo da dinâmica molecular é possível montar o seguinte roteiro:

- O sistema é inicializado a partir das posições e velocidades iniciais das partículas, onde é comum fornecer velocidades iniciais aleatórias. Porém isso nem sempre acontece, pois também pode fazer com que as partículas tenham velocidades iniciais diferentes.
- Uma vez dada as velocidades das partículas, as forças de interação são calculadas de acordo com a equação C.1
- A terceira etapa representa a integração das equações de movimento, que é feita a partir de algoritmos conhecidos, como por exemplo o algoritmo de Verlet [55, 56] que consiste em expandir as posições  $\mathbf{r}_t$  em um tempo posterior  $t+\delta t$  e também para um tempo anterior  $t-\delta t$ . Com isso, é possível escrever  $\mathbf{r}_t$  para esses intervalos de acordo com a equação C.2.

Nrr esse caso utilizamos uma água do tipo SPC/E [17], sendo essas parametrizações e os campos de forças implementados pelo pacote GROMACS [84].

$$\mathbf{r}(t + \delta t) = \mathbf{r}(t) + \mathbf{v}(t)\delta t + \frac{1}{2}\mathbf{a}(t)\delta t^2 + \frac{1}{6}\frac{d^3\mathbf{r}(t)}{dt^3}\delta t^3 + O(\delta t^4) \quad (\text{C.2})$$

$$\mathbf{r}(t - \delta t) = \mathbf{r}(t) - \mathbf{v}(t)\delta t + \frac{1}{2}\mathbf{a}(t)\delta t^2 - \frac{1}{6}\frac{d^3\mathbf{r}(t)}{dt^3}\delta t^3 + O(\delta t^4) \quad (\text{C.3})$$

Somando-se essas duas expressões, obtem-se:

$$\mathbf{r}(t + \delta t) = 2\mathbf{r}(t) - \mathbf{r}(t - \delta t) + \delta t^2\mathbf{a}(t), \quad (\text{C.4})$$

com um erro da ordem de  $\delta t^4$ .

Já as velocidades podem ser determinadas de acordo com a expressão C.5.

$$\mathbf{v}(t) = \frac{\mathbf{r}(t + \delta t) - \mathbf{r}(t - \delta t)}{2\delta t}, \quad (\text{C.5})$$

com erro da ordem de  $\delta t^2$

Procurando diminuir os erros, outros algoritmos como o velocit Verlet vêm sendo desenvolvidos. Esse algoritmo pode ser entendido a partir de uma alteração do algoritmo original. Assim é possível escrever suas equações como mostrado nas equações C.6 e C.7.

$$\mathbf{r}(t + \delta t) = \mathbf{r}(t) + \mathbf{v}(t)\delta t + \frac{1}{2}\mathbf{a}(t)\delta t^2 \quad (\text{C.6})$$

$$\mathbf{v}(t + \delta t) = \mathbf{v}(t) + \frac{\mathbf{a}(t) + \mathbf{a}(t + \delta t)}{2} \delta t \quad (\text{C.7})$$

visto que a aceleração  $\mathbf{a}(t)$  e a velocidade  $\mathbf{v}(t)$  são calculadas para um mesmo tempo  $t$ , assim, esse método tende a minimizar os erros.

### C.0.1 Ensembles

Na primeira parte desse trabalho (proteína hidratada) utilizou-se para descrever o sistema um ensemble do tipo NPT, ou ainda, um ensemble isotérmico-isobárico, que mantém fixo o número de partículas, a pressão e a temperatura desse sistema. Nesse caso a pressão se mantém fixa a partir a partir da variação do volume do sistema.

Alguns métodos variam o tamanho do sistema [107], já outros variam a geometria da caixa de simulação [108]. Existe também os sistemas em que se utilizam a ideia de paredes flutuantes [52, 109].

No estudo envolvendo placas paralelas imersas em água, o problema foi tratado utilizando o ensemble canônico ou NVT, onde o sistema é caracterizado por manter fixos a temperatura  $T$ , o volume  $V$  e o número de partículas  $N$ . É ainda possível, nesse caso, relacionar energia cinética com temperaturam via equação C.8.

$$3k_B T = m \langle v_j^2 \rangle \quad (\text{C.8})$$

sendo  $m$  a massa da partícula e  $v_j$  a  $j$ -ésima componente de velocidade.

Já para manter a temperatura fixa, reescala-se as velocidades das partículas com o uso de termostatos. Dentre os vários termostatos encontrados na literatura é possível citar alguns, como: Termostato de Andersen [107] e o termostato de Nosé-Hoover que foi o termostato utilizado nesse trabalho.

### C.0.2 Termostato de Nosé-Hoover

Nesse trabalho, tanto para o estudo de uma proteína hidratada quanto para o sistema de placas paralelas, utilizou-se o termostato de Nosé-Hoover.

Para poder se calcular a dinâmica molecular é necessário, inicialmente, definir os métodos de controle de temperatura. Os primeiros estudos acerca dos termostatos podem ser atribuídos à Berendsen *et al.* [110], que hoje é conhecido como termostato de Berendsen. Outros termostatos são utilizados em dinâmica molecular, como por exemplo o termostato de Andersen e o de Nosé-Hoover que foi aqui utilizado.

Considerando que a lagrangeana do sistema possa ser escrita como:

$$\mathcal{L} = \sum_{i=1}^N \frac{1}{2} m_i \tilde{q}^2 \dot{\tilde{r}}^2 - V(\tilde{r}) + \frac{1}{2} Q \dot{\tilde{q}}^2 - L k_B T_0 \ln \tilde{q} \quad (\text{C.9})$$

onde é introduzido agora uma nova coordenada  $q$ , considerando o banho térmico uma parte do sistema.  $L$  representa o grau de liberdade do sistema e  $Q > 0$  é um parâmetro de acoplamento associada a  $q$ .

Considerando que nos dois sistemas as coordenadas atômicas são as mesmas e sendo  $r$  a posição da partícula no sistema real, é possível escrever:

$$\tilde{r} = r; \quad \dot{\tilde{r}} = \tilde{q}^{-1} \dot{r}; \quad \tilde{q} = q; \quad \dot{\tilde{q}} = q^{-1} \dot{q} \quad (\text{C.10})$$

A variável  $\tilde{q}$  é um parâmetro de escala temporal, ou seja:

$$d\tilde{t} = \tilde{q} dt \quad (\text{C.11})$$

Com isso é possível escrever as equações de Nosé-Hoover como:

$$\ddot{\tilde{q}}^2 = m_i \mathbf{a}_i = \mathbf{F}_i - 2\tilde{q}\dot{\tilde{q}}\ddot{\tilde{r}}_i \quad (\text{C.12})$$

$$\ddot{\tilde{q}} = \frac{1}{Q\tilde{q}} \left[ \sum_{m_i \tilde{q}^2} \tilde{r}_i^2 - L k_B T_0 \right] \quad (\text{C.13})$$

Reestruturando as equações C.12 e C.13 em função das variáveis do sistema real, de acordo com o proposto por Nosé-Hoover é possível escrever:

$$m_i \tilde{a}_i = \tilde{F}_i - \frac{\dot{q} r_i}{q} \quad (\text{C.14})$$

$$\frac{\dot{q}}{q} = \frac{-k_B L}{Q} T(t) \left[ \frac{T_0}{T(t)} - 1 \right] \quad (\text{C.15})$$

Para se obter uma configuração de equilíbrio o sistema precisa evoluir no tempo, até sua energia oscilar em torno de um determinado valor. Já as médias termodinâmicas serão calculadas somente depois do sistema se encontrar em equilíbrio.

## Referências Bibliográficas

- [1] ANFINSEN, C. B. Principles that govern the folding of protein chains. *Science*, v. 181, p. 223, 1996.
- [2] TS Kappa Protein: <http://www.pdb.org/pdb/explore/explore.do?structureId=1TSK>. Acessado em 24/11/2013.
- [3] WANG, X.Y., OSTERBERG, J.R., REPASKY, E.A. Effect of Fever-Like Whole-Body Hyperthermia on Lymphocyte Spectrin Distribution, Protein Kinase C Activity, and Uropod Formation. *The J. of Immunology*, v. 162, p. 3378, 1999.
- [4] FRANKS, F. *Biochemistry and Biophysics at Low Temperatures* (Cambridge University Press, Cambridge) 4, 1985.
- [5] ANGELL, C. A.; FINCH, E. D.; BACH, P. Spin-echo diffusion coefficients of water to 2380 bar and  $-20^{\circ}$ . *The Journal of Chemical Physics*, v. 65, n. 8, p. 3063-3066, 1976.
- [6] STANLEY, H.; BARBOSA, M.; MOSSA, S.; NETZ, P.; SCIORTINO, F.; STARR, F.; YAMADA, M. Statistical physics and liquid water at negative pressures. *Physica A: Statistical Mechanics and its Applications*, v. 315, n. 1-2, p. 281-289, 2002. Slow Dynamical Processes in Nature.
- [7] CHAPLIN, M. Water: structure and science. <http://www.lsbu.ac.uk/water>. Acessado em: 25/12/2013.
- [8] CHAPLIN, M. Water: Protein Hydration. <http://www1.lsbu.ac.uk/water/protein.html>. Acessado em 20/12/2013.
- [9] CHAPLIN, M. Water: structure and science, 2011. Disponível em <http://www.lsbu.ac.uk/water/index2.html>. Acessado em 18/12/2013.
- [10] FURLAN, A. P. Efeitos de confinamento em "matriz porosa" nas propriedades anômalas de sistemas tipo a. Dissertação (Mestrado em Física)- Realizada sobre a orientação de M. Barbosa | Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil, 2013.
- [11] KROTT, L. B., BORDIN, J. R., BARRAZ JR, N. M., BARBOSA, M. C. Effects of nanopore and fluid structure on anomalies and phase transitions of confined core-softened fluids. *J. Chem. Phys.*, v. 142, p. 134502, 2015.

- [12] BORDIN, J. R., KROTT, L. B., BARBOSA, M. C. Surface Phase Transition in Anomalous Fluid in Nanoconfinement. *The J. Phys. Chem. C*, v. 118, p. 9497, 2014.
- [13] KANNO, H.; MIYATA, K. The location of second critical point of water. *Chemical Physics Letters*, v. 422, p. 507-512, 2006.
- [14] STANLEY, H. E.; KUMAR, P.; XU, L.; YAN, Z.; MAZZA, M. G.; BULDYREV, S. V.; CHEN, S. H.; MALLAMACE, F. The puzzling unsolved mysteries of liquid water: Some recent progress. *Physica A*, Amsterdam, v. 386, p. 729-743, 2007.
- [15] KELL, G. S. Density, thermal expansivity, and compressibility of liquid water from 0.deg to 150.deg., correlations and tables for atmospheric pressure and saturation reviewed and expressed on 1968 temperature scale. *J. Chem. Eng. Data*, v. 20, p. 97-105, 1975.
- [16] ANGELL, C. A., FINCH, E. D., WOOLF, L. A., BACH, P. Spin-echo diffusion coefficients of water to 2380 bar and -20 C *J. Chem. Phys.*, v. 65, p.3063, 1976.
- [17] BERENDSEN, H. J. C., GRIGERA, J. R., STRAATSMA, R. T. P. The Missing Term in Effective Pair Potentials. *J. Phys. Chem.*, v. 91, p.6269, 1987.
- [18] SPEEDY, R. J.; ANGELL, C. A. Isothermal compressibility of supercooled water and evidence for a thermodynamic singularity at  $-45^{\circ}\text{C}$ . *J. Chem. Phys.*, v. 65, p. 851, 1976.
- [19] NETZ, P. A.; STARR, F. W.; STANLEY, H. E.; BARBOSA, M. C. Static and dynamic properties of stretched water. *J. Chem. Phys.*, v. 115, p. 344, 2001.
- [20] Chaplin, M. Anomalous properties of water. <http://www1.lsbu.ac.uk/water/anmlies.html>. Acessado em 27/12/2013.
- [21] ERRINGTON, J. R.; DEBENEDETTI, P. G.; TORQUATO, S. Quantification of order in the lennard-jones system. *J. Chem. Phys.*, v. 118, p
- [22] SHELL, M. S.; DEBENEDETTI, P. G.; PANAGIOTOPOULOS, A. Z. Molecular structural order and anomalies in liquid silica. *Phys. Rev. E*, v. 66, p.011202, 2002.
- [23] OLIVEIRA, A. B. Anomalias termodinâmicas, dinâmicas e estruturais em modelos contnuos de duas escalas para a água. 2008. Tese (Doutorado em Física)- Realizada sobre a orientação de M. Barbosa | Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil, 2008.
- [24] FRANKS, F. *Protein stability: the value of 'old literature'* *Biophys. Chem.* v. 96, p. 117, 2002.
- [25] CHAPLIN, M.F. Opinion: Do we underestimate the importance of water in cell biology? *iNature Rev. Mol. Cell Biol.* v. 7, p. 861, 2006.

- [26] ZHANG, L.; WANG, L.; KAO, Y.-T.; QIU, W.; YANG, Y.; OKOBIAN, O.; ZHONG, D. Mapping hydration dynamics around a protein surface, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* v.104, p. 18461, 2007.
- [27] MARUYAMA, Y.; HARANO, Y. Does water drive protein folding? *Chem. Phys. Lett.* v. 581, p. 85, 2013.
- [28] FRANZESE, G.; RUBI, J. M. *Aspects of physical biology: Biological Water, Protein Solutions, Transport and Replication.* Springer Berlin Heidelberg. 2008.
- [29] FRANKS, F.; Protein stability: the value of 'old literature'. *Biophys. Chem.*, v. 96, 117, 2002.
- [30] ZHANG, L.; WANG, L.; KAO, Y.-T.; QIU, W.; YANG, Y.; OKOBIAN, O.; ZHONG, D.; mapping hydration dynamics around a protein surface. *Proceedings of National Academy of Science of United States of America*, v. 104, p. 18461-18466, 2007.
- [31] EBBINGHAUS, S.; KIM, S. J.; HEYDEN, M.; YU, X.; HEUGEN, U.; GRUEBELE, M.; LEITNER, D.; HAVENITH, M. An extended dynamical hydration shell around proteins. *Proceedings of National Academy of Science of United States of America*, v. 104, p. 20749-20752, 2007.
- [32] ZHONG, D.; PAL, S. K.; ZEWAİL, A. H. Biological water: A critique. *Chem. Phys. Lett.*, v. 503, p. 1-11, 2010.
- [33] BANDYOPADHYAY, S.; CHAKRABORTY, S.; BAGCHI, B. Second structure sensitivity of hydrogen bond lifetime dynamics in the protein hydration layer. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 127, p. 16660, 2005.
- [34] BANDYOPADHYAY, S.; CHAKRABORTY, S.; BALASUBRAMANIAN, S.; BAGCHI, B.; Sensitivity of Polar Solvation Dynamics to the Secondary Structures of Aqueous Proteins and the Role of Surface Exposure of the Probe. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 127, p. 4071-4075, 2005.
- [35] TANFORD, C.; How protein chemists learned about the hydrophobic factor. *Protein Science*, v. 6, p. 1358-1366, 1997.
- [36] SMOLIN, N.; OLENIKOVA, A.; BROVCHENKO, I.; GEIGER, A.; WINTER, R.; Properties of spanning water networks at protein surfaces. *J. Phys. Chem B*, v. 109, p. 10995-11005, 2005.
- [37] OLENIKOVA, A.; SMOLIN, N.; BROVCHENKO, I.; GEIGER, A.; WINTER, R.; Formation of spanning water networks on protein surfaces via 2D percolation transition. *J. Phys. Chem. B*, v. 109, p. 1988-1998, 2005.
- [38] NAKAGAWA, H.; KATAOKA, M.; Percolation of Hydration Water as a Control of Protein Dynamics. *J. Phys. Soc. Japan*, v. 79, 83801, 2010.

- [39] DANIEL, R. M.; FINNEY, J. L.; STONEHAN, M.; The molecular basis of life: is life possible without water?, *Phil. Trans. R. Soc. London B*, v. 359, p. 1191, 2004.
- [40] BROVCHENKO, I.; OLENIKOVA, A.; Which Properties of a Spanning Network of Hydration Water Enable Biological Functions? *Chem. Phys. Phys. Chem.*, v. 9, p. 2695-2702, 2008.
- [41] KUFFEL, A.; ZIELKIEWICZ, J. Why the solvation water around protein is more dense than bulk water. *The Journal of Physical Chemistry B*, v. 116, p. 12113-12124, 2012.
- [42] MERZEL, F., SMITH, J. C. Is the first hydration shell of lysozyme of higher density than bulk water? *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v. 99, p. 5378, 2002.
- [43] KUFFEL, A., ZIELKIEWICZ, J. Why the Solvation Water around Proteins Is More Dense than Bulk Water. *J. Phys. Chem B*, v. 116, p. 12113, 2012.
- [44] BLANC, E., LECOMTE, C., RIETSCHTEN, J. V., SABATIER, J. M., DARBON, H. Solution structure of TsKapa, a charybdotoxin-like scorpion toxin from *Tityus serrulatus* with high affinity for apamin-sensitive Ca(2+)-activated K<sup>+</sup> channels. *Proteins-Structure Function and Genetics*, v. 29, p. 359, 1997.
- [45] KARPLUS, M. Aspects of protein reaction dynamics: Deviations from simple behavior. *J. Phys. Chem. B*, v. 104, p. 11-27, 2000.
- [46] McCALLISTER, E. L.; ALM, E.; BAKER, D. Critical role of  $\beta$ -hairpin formation in protein G folding. *Nature Struc. Biol.*, v. 7, p. 669-673, 2000.
- [47] KUMAR, P.; BULDYREV, S. V.; STARR, F. W.; GIOVAMBATTISTA, N.; STANLEY, H. E. Thermodynamics, structure, and dynamics of water confined between hydrophobic plates. *Phys. Rev. E*, v. 72, p. 051503, 2005.
- [48] KOGA, K.; H.TANAKA. Phase diagram of water between hydrophobic surfaces. *J. Chem. Phys.*, v. 122, p. 011202, 2005.
- [49] GIOVAMBATTISTA, N.; ROSSKY, P. J.; DEBENEDETTI, P. G. Phase transitions induced by nanoconfinement in liquid water. *Phys. Rev. Lett.*, v. 102, p. 050603, 2009.
- [50] MEYER, M.; STANLEY, H. E. Liquid-Liquid phase transition in confined water: A monte carlo study. *J. Phys. Chem. B*, v. 103, p. 9728, 1999.
- [51] SCHEIDLER, P.; KOB, W.; BINDER, K. The relaxation dynamics of a supercooled liquid confined by rough walls. *J. Phys. Chem. B*, v. 108, p. 6673-6686, 2004.
- [52] LUPKOWSKI, M.; VAN SWOL, F. Computer simulation of uids interacting with uctuating walls. *J. Chem. Phys.*, v. 93, p. 737, 1990.



- [53] JORGENSEN, W. L., CHANDRASEKHAR, J., MADURA, J. D., IMPEY, R. W., KLEIN, M. L. Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. *J. Chem. Phys.*, v. 79, p. 926, 1983.
- [54] BARBOSA, R. C., BARBOSA, M. C. Hydration Shell of TS-Kappa Protein: Higher Density than bulk water. *Physica A*, v. 439, p. 48, (2015).
- [55] VERLET, L. Computer 'experiments' on classical fluids i: Thermodynamical properties of Lennard-Jones molecules. *Phys. Rev.*, v. 159, p. 98, 1967.
- [56] VERLET, L. Computer 'experiments' on classical fluids ii: Equilibrium correlation functions. *Phys. Rev.*, v. 165, p. 201, 1968.
- [57] JEDLOOSZKY P.; RICHARDI J., Comparison of different water models from ambient to supercritical conditions: A Monte Carlo simulation and molecular Ornstein-Zernike, *J. Chem. Phys.* v. 110, p. 8019-8031, 1999.
- [58] MAHONEY, M. W.; JORGENSEN, L. A five-site model for liquid water and the reproduction of the density anomaly by rigid, nonpolarizable potential functions, *J. Chem. Phys.*, v. 112 p. 8910-8922, 2000.
- [59] J. L. F. ABASCAL; C. VEGA, A general purpose model for the condensed phases of water: TIP4P/2005, *J. Chem. Phys.* V. 123, p. 234505, 2005.
- [60] Y. WU, H. L. TEPPER; G. A. VOTH, Flexible simple point-charge water model with improved liquid state properties, *J. Chem. Phys.* v. 124 p. 024503, 2006.
- [61] HEMMER, P. C.; STELL, G. Fluids with several phase transitions. *Phys. Rev. Lett.*, v. 24, 1284, 1970.
- [62] JAGLA, E. A. Liquid-liquid equilibrium for monodisperse spherical particles. *Phys. Rev. E*, v. 63, p. 061501, 2001.
- [63] MAITI, M.; WEINER, S.; BULDYREV, S.; STANLEY, H. E.; SASTRY, S.; Potential of mean force between hydrophobic solutes in the Jagla model of water and implications for cold denaturation of proteins. *J. Chem. Phys.*, v. 136, 044512, 2012.
- [64] DE OLIVEIRA, A. B.; FRANZESE, G.; NETZ, P. A.; BARBOSA, M. C. Waterlike hierarchy of anomalies in a continuous spherical shouldered potential. *The Journal of Chemical Physics*, v. 128, n. 6, p. 064901, 2008.
- [65] DE OLIVEIRA, A. B.; NETZ, P. A.; COLLA, T.; BARBOSA, M. C. Thermodynamic and dynamic anomalies for a three-dimensional isotropic core-softened potential. *J. Chem. Phys.*, v. 124, p. 084505, 2006.
- [66] DE OLIVEIRA, A. B.; NETZ, P. A.; COLLA, T.; BARBOSA, M. C. Structural anomalies for a three dimensional isotropic core-softened potential. *J. Chem. Phys.*, v. 125, p. 124503, 2006.

- [67] NETZ, P. A.; RAYMUNDI, J. F.; CAMERA, A. S.; BARBOSA, M. C. Dynamic anomalies of fluids with isotropic double-well potential. *Physica A*, Amsterdam, v. 342, p. 48, 2004.
- [68] HOOVER, W. G. Canonical dynamics: Equilibrium phase-space distributions. *Phys. Rev. A*, v. 31, p. 1695, 1985.
- [69] ABASCAL, J. L. F., VEGA, C. A general purpose model for the condensed phases of water: TIP4P/2005. *J. Chem. Phys.*, v.123, p.234505, 2005.
- [70] KOGA, K.; H.TANAKA. Phase diagram of water between hydrophobic surfaces. *J. Chem. Phys.*, v. 122, p. 011202, 2005.
- [71] KOGA, K.; ZENG, X. C.; TANAKA, H. Freezing of confined water: A bilayer ice phase in hydrophobic nanopores. *Phys. Rev. Lett.* , v. 79, p. 52625265, 1997.
- [72] KOGA, K.; GAO, G. T.; TANAKA, H.; ZENG, X. C. Formation of ordered ice nanotubes inside carbon nanotubes. *Nature* , v. 412, p. 802-805, 2001.
- [73] HUMMER, G.; RASAIHAH, J. C.; NOWORYTA, J. P. Water conduction through the hydrophobic channel of a carbon nanotube. *Nature*, v. 414, p. 1880, 2001.
- [74] GALLO, P., ROVERE, M. Structural properties and liquid spinodal of water confined in a hydrophobic environment. *Phys. Rev. E*, v. 76, p. 061202, 2007.
- [75] ELOLA, M. D.; RODRIGUEZ, J.; LARIA, D. Structure and dynamics of liquid methanol confined within functionalized silica nanopores. *J. Chem. Phys.*, v. 133, p. 154707, 2010.
- [76] KROTT, L. B. Um modelo de duas escalas (tipo água) sob confinamento. Dissertação (Mestrado em Física)- Realizada sobre a orientação de M. Barbosa | Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil, 2012.
- [77] KROTT, L. B.; BARBOSA, M. C. B. Anomalies in a waterlike model confined between plates. *J. Chem. Phys.* v. 138, p. 084505, 2013.
- [78] GIOVAMBATTISTA, N., ROSSKY, P.J., DEBENEDETTI, P.G. Effect of Pressure on the Phase Behavior and Structure of Water Confined Between Nanoscale Hydrophobic and Hydrophilic Plates. *Phys. Rev. E*, v. 73, p.041604, 2006.
- [79] GIOVAMBATTISTA, DEBENEDETTI, P. G., ROSSKY, P.J. Effect of Temperature on the Structure and Phase Behavior of Water Confined by Hydrophobic, Hydrophilic and Heterogeneous Surfaces. *J. Phys. Chem. B*, v.113, p.13723, 2009.
- [80] WEEKS, J.D., CHANDLER, D., ANDERSEN, H.C. Role of Repulsive Forces in Determining the Equilibrium Structure of Simple Liquids. *J. Chem. Phys.*, v.54, p. 5237, 1971.

- [81] ALLEN, M. P.; TILDESLEY, D. J. *Computer simulation of liquids*. Oxford: Oxford University Press, 1987.
- [82] KROTT, L. B.; BARBOSA, M. C. B.; A water-like model under confinement for hydrophobic and hydrophilic particle-plate interaction potentials. *Phys. Rev. E*, v. 89, p. 012110, 2013.
- [83] ZANGI, R. Water confined to a slab geometry: a review of a recent computer simulation studies. *J. Phys.: Condens. Matter*, v. 16, p. S5371, 2004.
- [84] PRONK, S.; PALIL, S.; SCHULZ, R.; LARSSON, P.; BJELKMAR, P.; APOSTOLOV, R.; SHIRTS, M.; SMITH, J.; KASSON, P.; van der SPOEL, D.; HESS, B.; LINDAHL, E. GROMACS 4.5: a high-throughput and highly parallel open source molecular simulation toolkit. v. 29, p. 845-854, 2013.
- [85] SOARES, R. O. Dinâmica molecular de proteínas: estabilidade e renaturação. 2009. Dissertação (Mestrado em Física Biológica)- Realizada sobre a orientação de Antônio Caliri | Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil, 2009.
- [86] ZHOU, H., *et al.* Contributions of disulfide bonds in a nested pattern to the structure, stability, and biological functions of endostatin. *J. of Bio. Chem.* , v. 12, p. 11303, 2005.
- [87] PARRINELO, M.; RAHMAN, A. Crystal structure and pair potentials: a molecular dynamics study. *Phys. Rev. Lett.*, v. 45, p. 1196, 1980.
- [88] KUMAR, P., BULDYREV, S., STARR, F., GIOVAMBATTISTA, N., STANLEY, H. E. Thermodynamics, structure, and dynamics of water confined between hydrophobic plates. *Phys. Rev. E*, v. 72, p.051503, 2005.
- [89] KROTT, L. B.; BARBOSA, M. C. B.; Model of waterlike fluid under confinement for hydrophobic and hydrophilic particle-plate interaction potentials. *Phys. Rev. E*, v. 89, 2014.
- [90] SVERGUN, D., RICHARD, S., KOCH, M. H., SAYERS, Z., KUPRIN, S., ZACCAI, G. Protein hydration in solution: Experimental observation by x-ray and neutron scattering. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, v.95, p.2267, 1998.
- [91] KUMAR, P., STANLEY, H. E. Thermal Conductivity Minimum: A New Water Anomaly. *T. J. Phys. Chem. B*, v. 115, p. 14269, 2011.
- [92] NIETO-DRAGHI, C. *et al.* Thermodynamic and transport properties of carbon dioxide from molecular simulation. *J. Chem. Phys.*, v.126, p. 064509, 2007.
- [93] KUFFEL, A., ZIELKIEWICZ, J. The importance of the shape of the protein-water interface of a kinesin motor domain for dynamics of the surface atoms of the protein. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, v. 14, p. 5561, 2012.

- [94] STREKALOVA, E. G., LUO, J., STANLEY, H. E., FRANZESE, G., BULDYREV, S. V. Confinement of Anomalous Liquids in Nanoporous Matrices. *Phys. Rev. Lett.*, v. 109, p. 105701, 2012.
- [95] KISS, P. T., BARANYAI, A. Clusters of classical water models. *J. Chem. Phys.*, v. 131, p. 204310, 2009.
- [96] HUA, L., XUHUI, H., ZHOU, R., BERNE, B. J. Dynamics of water Confined in the Interdomain region of a multidomain protein. *J. Phys. Chem. B*, v. 110, p. 3704, 2005.
- [97] M. W.; JORGENSEN, W. L.; A five-site model for liquid water and the reproduction of the density anomaly by rigid, nonpolarizable potential functions, *J. Chem. Phys.*, v. 112, p. 8910, 2000.
- [98] HORN, H. W.; SWOPE, W. C.; PITERA, J. W.; MADURA, J. D.; DICK, J. D.; HURA, G. L.; HEAD-GORDON, T. Development of an improved four-site water model for biomolecular simulations: TIP4P-Ew. *J. Chem. Phys.*, v. 120, p. 9665, 2004.
- [99] JORGENSEN, W. L.; TIRADO-RIVES, J. The OPLS Force Field for Proteins. Energy Minimizations for Crystals of Cyclic Peptides and Crambin. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 110, p. 1657-1666, 1988.
- [100] BEST, R.; MITTAL, J. Protein simulations with an optimized water model: cooperative helix formation and temperature-induced unfolded state collapse. *J. Phys. Chem. B*, v. 114, p. 14916, 2010.
- [101] KONY, D.; DAMM, W., *et al.*. An improved OPLS-AA force field for carbohydrates. *Journal of Computational Chemistry* v. 23, p.1416, 2002.
- [102] XU, Z. T.; LUO, H. H. *et al.* Modifying the OPLS-AA force field to improve hydration free energies for several amino acid side chains using new atomic charges and an off-plane charge model for aromatic residues. *Journal of Computational Chemistry*, v. 28, p. 689, 2007.
- [103] WENSINK, E. J. W.; HOFFMANN, A. C. *et al.* Dynamic properties of water/alcohol mixtures studied by computer simulation. *Journal of Chemical Physics*, v. 119, p. 7308, 2003.
- [104] CORNELL, W. D.; CIEPLAK, P.; BAYLY, C. I.; GOULD, I. R.; MERZ, K. M. Jr; FERGUNSON, D. M.; SPELLMEYR, D. C.; FOX, T.; CALDWELL, J. W.; KOLLMAN, P. A. A Second Generation Force Field for the Simulation of Proteins, Nucleic Acids, and Organic Molecules. *J. Am. Chem. Soc.* v. 117, p. 5179, 1995.
- [105] MARTIN, M. G. Comparison of the AMBER, CHARMM, COMPASS, GRO-MOS, OPLS, TraPPE and UFF force fields for prediction of vapor-liquid coexistence curves and liquid densities. *Fluid Phase Equilibria*, v. 248, p. 50. 2006.

- [106] BEST, R., B., MITTAL, J. Protein Simulations with an Optimized Water Model: Cooperative Helix Formation and Temperature-Induced Unfolded State Collapse. *J. Phys. Chem. B*, v. 114, p. 14916, 2010.
- [107] ANDERSEN, H. C. Molecular dynamics simulation at constant pressure and/or temperature. *J. Chem. Phys.*, v. 72, p. 2384, 1980.
- [108] PARRINELLO, M.; RAHMAN, A. Polymorphic transitions in single crystals: a new molecular dynamics method. *J. Appl. Phys.*, v. 52, p. 7182, 1981.
- [109] THOMPSON, A. P.; G, S. H. Direct molecular simulation of gradient-driven diffusion of large molecules using constant pressure. *J. Chem. Phys.*, v. 110, p. 10693, 1999.
- [110] BERENDSEN, H. J. C.; POSTMA, J. P. ; van GUNSTEREN, W. F.; DI-NOLA, A.; HAAK, J. R. Molecular Dynamics with coupling to an external bath. *J. Chem. Phys.*, v. 81, p. 3684, 1984.