



Estudo da temperatura de máxima densidade em soluções aquosas binárias para quatro aminoácidos via simulações de dinâmica molecular

Palavras-Chave: água, dinâmica molecular, aminoácidos

Autores/as:

Renan Gravalos GreTERS – FEQ, UNICAMP

Luiz Guilherme Lomônaco Germiniani – FEQ, UNICAMP

Prof. Dr. Luís Fernando Mercier Franco (coorientador) – FEQ, UNICAMP

Prof.^a Dr.^a Marisa Masumi Beppu (orientadora) – FEQ, UNICAMP

INTRODUÇÃO:

A água é uma molécula abundante no planeta Terra e essencial para os seres vivos. No entanto, apesar de ser muito comum, ela apresenta propriedades físico-químicas únicas, algumas delas tão particulares que são chamadas de anomalias^{1,2}. Muitos estudos têm sido realizados buscando compreender melhor essas anomalias, muitas das quais estão associadas a formação de ligações de hidrogênio. No caso de soluções aquosas, observa-se a interferência nas interações de hidrogênio das moléculas de água devido à adição de solutos, e conseqüentemente, ao seu efeito nessas propriedades^{1,3,4}.

Um desses comportamentos anômalos da água é a presença de uma temperatura de máxima densidade (TMD) em torno de 4°C (277,15K), que decorre da inversão do coeficiente de dilatação térmica a essa temperatura^{5,6}. Essa é uma propriedade importante para diversas áreas, como a navegação e, armazenamento de produtos e ao entendimento de sistemas biológicos. Estudos anteriores revelam que há um decréscimo linear da TMD com a adição dos aminoácidos L-triptofano, L-histidina, L-fenilalanina e L-prolina como solutos⁷.

A fim de reproduzir as condições experimentais de forma eficiente e econômica, tem sido cada vez mais comum a aplicação de métodos computacionais em sistemas de interesse². Um desses métodos é a simulação de dinâmica molecular, que pode ser usado no cálculo de propriedades termodinâmicas. O método consiste em representar os átomos e moléculas como partículas newtonianas. Dessa forma, o comportamento dinâmico de um sistema com muitas partículas é simulado pela integração numérica das equações de movimento dos objetos microscópicos no domínio do tempo. A partir dos resultados, aplica-se ferramentas de mecânica estatística para se obter propriedades macroscópicas como pressão, temperatura, energia interna, volume e densidade⁸. Os resultados das simulações dependem fundamentalmente dos modelos utilizados para representar as interações moleculares, os chamados campos de força.

No que se refere a água, existem diversos modelos que são empregados de acordo com a exatidão fornecida para uma dada propriedade que se deseja estudar. Os modelos para água divergem, principalmente, nos valores para os parâmetros de interação e no número de sítios. No caso do modelo SPC/E, segue-se a representação intuitiva da água com três sítios, um para cada átomo⁸. Porém, para o estudo de algumas outras propriedades, a precisão pode ser aumentada através da inclusão de sítios virtuais de interação, que permitem uma melhor distribuição de cargas eletrostáticas, como o modelo TIP4P com quatro sítios⁸, e TIP5P, com cinco sítios⁹.

Neste trabalho, o estudo da TMD das soluções de cinco aminoácidos foi realizado através de simulações de dinâmica molecular utilizando os modelos SPC/E e TIP4P para a água. Os aminoácidos estudados foram prolina, fenilalanina, histidina e triptofano. Teve-se como objetivo, investigar a aplicabilidade dos métodos de dinâmica molecular ao estudo da TMD, assim como comparar o desempenho dos modelos de água mencionados.

METODOLOGIA:

As simulações foram realizadas usando o pacote de simulação GROMACS 2018¹⁰ e as configurações iniciais foram geradas utilizando o *software* PACKMOL¹¹. Os sistemas foram submetidos a uma etapa de minimização de energia e uma etapa de equilíbrio térmica com geração de velocidades. A equilíbrio térmica foi realizada no conjunto NVT durante 1 ns utilizando o termostato de Nosé-Hoover. Em seguida, para os casos com água pura, o sistema foi simulado no conjunto NPT por 6 ns, enquanto para as soluções de aminoácidos o tempo de simulação foi de 3 ns, utilizando o termostato de Nosé-Hoover e o barostato de Parrinello-Rahman. O passo de integração foi de 0,5 fs.

As variáveis termodinâmicas dos sistemas foram calculadas a partir dos resultados da simulação usando a ferramenta *energy* do GROMACS. Avaliando o comportamento dinâmico da energia potencial, energia cinética, pressão, volume e temperatura, constatou-se que elas atingiram médias constantes após 1 ns. Dessa forma, apenas os 2 ns finais da etapa NPT foram considerados como produção e usados no cálculo da densidade do sistema.

Como a literatura aponta valores de TMD de 241 K e 253 K para os modelos SPC/E e TIP4P, respectivamente³, as faixas de temperatura para cada um dos modelos foram de 238 K a 245 K para o SPC/E e de 250 K a 256 K para o TIP4P. A temperatura foi variada de 5 em 5 K e a pressão foi mantida constante a 1 bar. Para alguns casos, foi necessário realizar simulações em temperaturas adicionais devido ao deslocamento da TMD causado pela presença do soluto. A densidade também foi calculada utilizando a ferramenta *energy* do GROMACS.

Para avaliar o comportamento da TMD em função da molalidade da solução, utilizou-se, para cada sistema, uma determinada quantidade de moléculas de aminoácidos e de solvente. Devido ao alto custo computacional de simular sistemas com grande número de moléculas, foram simuladas apenas quatro concentrações, que não necessariamente iguais àquelas encontradas na literatura⁷. Variaram-se o número total de moléculas e a quantidade de aminoácidos de forma que as concentrações investigadas respeitassem o limite de solubilidade de cada aminoácido. A molalidade das soluções foi calculada dividindo o número de moléculas de soluto pelo produto entre o número de moléculas do solvente e sua massa molecular. Os aminoácidos foram modelados utilizando o campo de força OPLS-AA/M¹³.

Utilizou-se o *software* gnuplot para determinar a TMD, aproximando o comportamento dos resultados de densidade da simulação em função da composição por uma parábola. Com base nos coeficientes obtidos neste ajuste, a TMD foi calculada como o vértice da parábola. A diferença entre as TMDs da água pura e das soluções de aminoácidos (ΔTMD) para cada composição e modelo de água foram determinadas e a variação da ΔTMD com o aumento da concentração foi ajustada por uma reta.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Para as simulações da água pura as TMDs obtidas foram 247,41 K para o SPC/E e 255,97 K para o TIP4P. Como esses valores foram diferentes dos valores experimentais encontrados na literatura, adotou-se a diferença entre as TMDs das soluções e do solvente puro (ΔTMD) como critério para investigar o efeito dos aminoácidos sobre a variação desta propriedade com o aumento da concentração e para a comparação dos diferentes modelos de água.

Dessa forma, foram realizadas as simulações das soluções de aminoácidos e aos resultados foi ajustada uma parábola a fim de calcular a TMD. A Figura 1 exemplifica esses resultados para a solução contendo 0,083 mol.kg⁻¹ de fenilalanina para ambos os modelos de água.

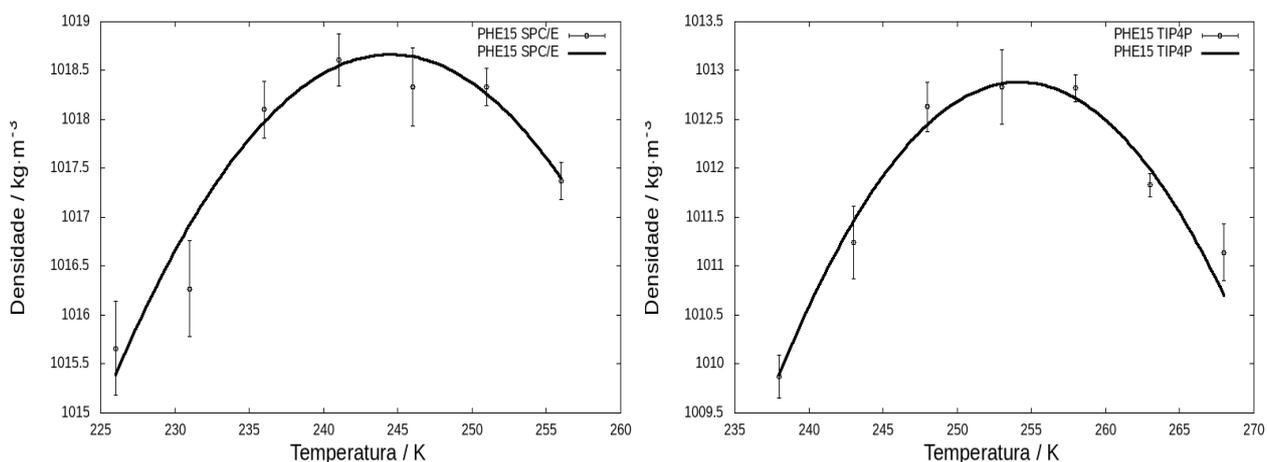


Figura 1: pontos das simulações e função polinomial para a solução de fenilalanina com 15 moléculas para os modelos SPC/E e TIP4P.

Como se pode observar, a função quadrática se ajusta bem aos pontos calculados a partir das simulações, sendo que os valores de densidade apresentaram valores variáveis de erro. Para o caso do SPC/E, o ajuste quadrático revela que a TMD está em 244,49 K, enquanto para o TIP4P, ele está em 254,17 K, de forma que é possível notar que há uma diferença entre os valores dos casos para água pura e das soluções de aminoácidos e entre os próprios modelos. Tendências similares foram observados para os demais aminoácidos, exceto para as simulações das soluções de prolina com molalidade de 2,921 mol.kg⁻¹, que não apresentaram um ponto de máximo. Os resultados de ΔTMD para os modelos SPC/E e TIP4P são apresentados nas Tabelas 1 e 2, respectivamente.

SPC/E							
Prolina		Fenilalanina		Histidina		Triptofano	
Molalidade mol.kg ⁻¹	ΔTMD K						
0,279	-3,80	0,028	-2,42	0,056	1,43	0,014	0,34
0,561	-16,39	0,055	-2,39	0,111	-1,93	0,028	0,44
0,845	-20,98	0,083	-2,92	0,167	-2,80	0,042	-0,01
2,921	-	0,111	0,054	0,223	-2,14	0,056	-1,55

Tabela 1: Molalidades e diferenças entre as TMDs da água pura e das soluções de aminoácidos para a prolina, fenilalanina, histidina e triptofano para o modelo SPC/E.

TIP4P					
Prolina		Fenilalanina		Histidina	
Molalidade mol.kg ⁻¹	ΔTMD K	Molalidade mol.kg ⁻¹	ΔTMD K	Molalidade mol.kg ⁻¹	ΔTMD K
0,279	-5,85	0,028	-0,44	0,056	-0,43
0,561	-7,84	0,055	-1,64	0,111	-3,39
0,845	-12,72	0,083	-1,80	0,167	-2,80
2,921	-	0,111	-1,41	0,223	-6,04

Tabela 2: Molalidades e diferenças entre as TMDs da água pura e das soluções de aminoácidos para a prolina, fenilalanina e histidina para o modelo TIP4P.

Nota-se que, de modo geral, o módulo da ΔTMD tende a aumentar com a molalidade dos aminoácidos para os dois modelos de água. Os valores dessa variação da TMD são diferentes quando observado o mesmo aminoácido com o modelo SPC/E e TIP4P, porém, as tendências são

similares, sendo a prolina o que apresenta a maior queda da TMD para ambos os modelos, seguido pela histidina, fenilalanina e triptofano, que apresenta os maiores valores de ΔTMD .

Com o ajuste do comportamento da ΔTMD em função da molalidade por uma reta, obtiveram-se valores dos coeficientes angulares (α) utilizando a TMD da água pura daquele modelo como coeficiente linear. Dessa forma, α , em $K \cdot kg \cdot mol^{-1}$, representa a variação da ΔTMD com a molalidade. Com base nesses valores, comparou-se os resultados de simulação com os dados experimentais da literatura⁹, avaliando a capacidade dos modelos utilizados em capturar o efeito causado pela presença dos aminoácidos. Um valor negativo de α indica que a temperatura de máxima densidade diminui conforme aumenta a concentração do soluto na solução. O gráfico da Figura 2 apresenta um comparativo entre os ajustes lineares dos pontos para a histidina encontrados na literatura e pelos modelos SPC/E e TIP4P.

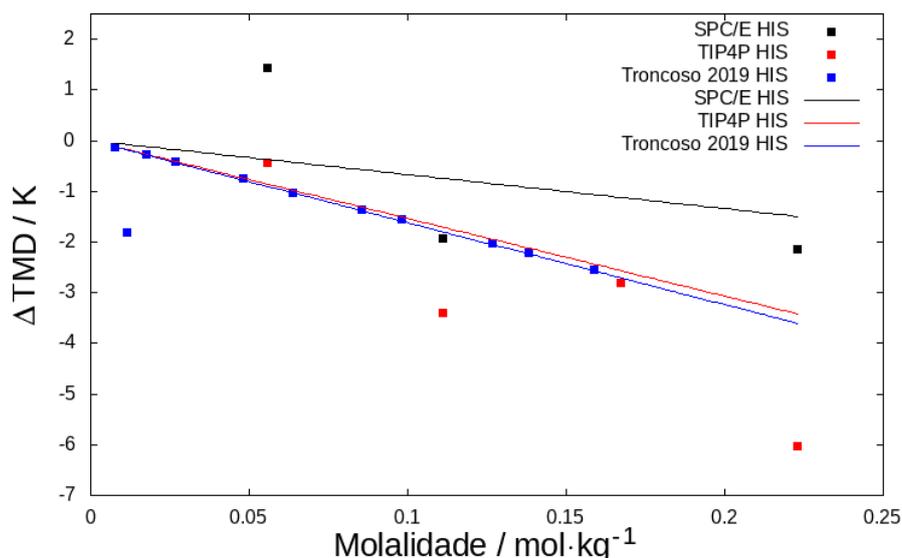


Figura 2: ajustes lineares para a variação da temperatura de máxima densidade para histidina segundo o modelo SPC/E, TIP4P e experimental.

Analisando as retas, percebe-se uma redução do ΔTMD em função da molalidade para ambos os modelos, o que é consistente com o descrito na literatura e que o modelo TIP4P melhor se aproximou do resultado experimental que o modelo SPC/E. No entanto, é evidente que o erro associado aos pontos experimentais é menor do que aqueles obtidos por simulação, uma vez que estes apresentaram elevada dispersão.

O comportamento observado para a histidina é similar ao observado para os demais aminoácidos. Em um comparativo geral, os valores de α para cada modelo e suas respectivas incertezas foram apresentados na Tabela 3.

Aminoácidos	$\alpha / K \cdot kg \cdot mol^{-1}$		
	Literatura ⁷	SPC/E	TIP4P
Prolina	$-9,85 \pm 0,08$	$-19,94 \pm 4,69$	$-17,94 \pm 2,11$
Fenilalanina	$-13,87 \pm 0,14$	$-25,10 \pm 14,76$	$-17,65 \pm 2,17$
Histidina	$-15,93 \pm 0,05$	$-6,70 \pm 8,33$	$-15,34 \pm 4,20$
Triptofano	$-16,4 \pm 0,04$	$1,21 \pm 5,16$	-

Tabela 3: Valores dos coeficientes angulares das retas que descrevem a variação da TMD com relação a concentração da solução e seus respectivos erros.

Nota-se que, para todos os casos, o coeficiente angular das retas é negativo. Esse comportamento só não é observado para as soluções de triptofano no modelo SPC/E. No entanto, a incerteza para esse coeficiente é maior que o valor obtido para ele, o que sugere que seriam

necessárias mais simulações em diferentes concentrações, ou mesmo aumentar o tempo de simulação, para se obter maior confiabilidade no resultado. O mesmo comentário é válido, em menor grau, para as outras simulações, especialmente para os aminoácidos histidina e fenilalanina.

Assim, observa-se um desempenho qualitativo razoável para as simulações com o modelo TIP4P. Já o modelo SPC/E, apesar de também apresentar que a TMD diminui com aumento da molalidade, observa-se uma menor consistência em relação aos valores experimentais. No entanto, nos dois casos, as incertezas são significativas, o que não ocorre com os pontos experimentais. Idealmente, simulações mais longas deveriam ser usadas, fornecendo informações mais contundentes sobre o comportamento da TMD. Essa questão será tratada em trabalhos futuros.

CONCLUSÕES:

A simulação de dinâmica molecular mostrou-se capaz de fornecer dados sobre a TMD de soluções aquosas de aminoácidos, sendo que o modelo TIP4P apresentou resultados ligeiramente mais confiáveis. A tendência de deslocamento da TMD nas soluções de aminoácidos investigadas apresentou um comportamento qualitativo semelhante aos resultados experimentais encontrados na literatura, no entanto, os valores de coeficiente angular calculados diferem significativamente. Esses desvios possivelmente estão associados a qualidade estatística dos resultados obtidos por simulação e conclusões definitivas dependem de novos estudos.

BIBLIOGRAFIA:

- [1] PINHEIRO, L.; BARBOSA, M. C. B.; DIEHL, A. *Pontos críticos, transições de fase e anomalias tipo água para potencial isotrópico de duas escalas com aumento do poço atrativo*. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Doutorado. Tese. 2017. <http://hdl.handle.net/10183/165404>
- [2] BARBOSA, R. C.; BARBOSA, M. C. B. *Anomalias termodinâmicas da água na presença de macromoléculas hidrofílicas e hidrofóbicas*. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Doutorado. Tese. 2015 <http://hdl.handle.net/10183/130086>.
- [3] VEGA, C.; ABASCAL, J.L.F. *Relation between the melting temperature and the temperature of maximum density for the most common models of water*. *J Chem Phys*, v. 123, p. 144054, 2005.
- [4] CORRADINI, D.; ROVERE, M.; GALLO, P. *A route to explain water anomalies from results on an aqueous solution of salt*. *J Chem Phys*, v. 132, p. 134508, 2010.
- [5] Macdonald, D.D., Estep, M.E., Smith, M.D. *et al.* Heats of solution and the influence of solutes on the temperature of maximum density of water. *J Solution Chem* 3, 713–725 (1974). <https://doi.org/10.1007/BF00646801>
- [6] Macdonald, D. D., Smith, M. D., & Hyne, J. B. (1971). *The Influence of Sulfoxides and Sulfones on the Temperature of Maximum Density of Water*. *Canadian Journal of Chemistry*, 49(17), 2817–2821. doi:10.1139/v71-469
- [7] TRONCOSO, J.; GONZÁLEZ-SALGADO, D.; ROMANÍ, L. *Temperature of Maximum Density for Binary Aqueous Solutions of Five Amino Acids*. *J Chem Eng Data*, v. 64, n. 12, p. 5847-5856.
- [8] JORGENSEN, W.L.; JENSEN, C. *Temperature dependence of TIP3P, SPC, and TIP4P water from NPT Monte Carlo simulations: Seeking temperatures of maximum density*. *J Comput Chem*, v. 19, p. 1179-1186, 1998.
- [9] MAHONEY, 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.
- [10] VAN DER SPOEL, D.; LINDAHL, E.; HESS, B.; GROENHOF, G.; MARK, A. E.; BERENDSEN, H.J.C. *GROMACS: Fast, Flexible, Free*. *J Comput Chem*, v. 26, p. 1701–1718, 2005.
- [11] MARTÍNEZ, L.; ANDRADE, R.; BIRGIN, E. G.; MARTÍNEZ, J.M. *PACKMOL: A package for building initial configurations for molecular dynamics simulations*. *J Comp Chem*, v. 30, p. 2157-2164, 2009.
- [12] WILLIAMS, T.; KELLEY, C. *gnuplot*. Copyright 1986 – 1993, 1998, 2004.
- [13] ROBERTSON, M. J.; TIRADO-RIVES, J.; JORGENSEN, W. L. *Improved Peptide and Protein Torsional Energetics with the OPLS-AA Force Field*. *Journal of Chemical Theory and Computation* 2015, 11, 3499–3509.