

Ricardo Alexandre dos Santos Silva

O efeito da Solvatação na conformação
de cadeias ácidas poligalacturônicas(PGA)



1910001266





**O efeito da solvatação na conformação
de cadeias ácidas poligalacturônicas(PGA)**

Ricardo Alexandre dos Santos Silva

Dissertação de Mestrado
Pós-Graduação em Biofísica Molecular

Rua Cristovão Colombo, 2265

Caixa Postal 136

15054-000 - São José do Rio Preto - SP - Brasil

Telefone: (017) 221-2200

Fax: (017) 221-2200

Silva, Ricardo Alexandre Ricardo.

O efeito da solvatação na conformação de cadeias ácidas
poligacturônicas (PGA) / Ricardo Alexandre dos Santos Silva– São José
do Rio Preto : [s.n.], 2003

81 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: José Roberto Ruggiero

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista. Instituto de
Biociências, Letras e Ciências Exatas

1. Biofísica. 2. Polissacarídeos - Solvatação. 3. Cadeias ácidas
poligacturônicas - Solvatação. 4. Cadeias de polissacarídeos - Solvatação.
5. Solvatação – Efeitos. I. Ruggiero, José Roberto. II. Universidade
Estadual Paulista. Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. III.
Título.

CDU – 577.114.5



O efeito da solvatação na conformação de cadeias ácidas poligacturônicas(PGA)

Ricardo Alexandre dos Santos Silva

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas
da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Câmpus de São
José do Rio Preto, São Paulo, para a obtenção do título de Mestre em Biofísica
Molecular.

Orientador: Prof. Dr. José Roberto Ruggiero



L. 1266/04

São José do Rio Preto

2003



Agradecimentos

A algumas pessoas que carinhosamente se dispuseram a me ajudar quando precisei de auxílio ou simplesmente contribuíram, mesmo que de forma indireta, para a realização deste trabalho.

Ao meu grande amigo Sérgio Eduardo, por me confiar, de modo incondicional, sua sala, seu computador e sua impressora, além de suas sugestões e conselhos sempre bem vindos.

À estimada amiga Lessandra pelo incentivo e pelas várias horas em que passamos refletindo este trabalho, o que me motivava ainda mais.

Aos amigos Sidney, Luís e Marcia que, com paciência e humildade, estiveram sempre prontos a esclarecer minhas dúvidas.

Aos amigos Irene, Fausto e Joaquim.

A todos os meus colegas do departamento de física o meu muito obrigado.

Um agradecimento especial ao professor e doutor José Roberto Ruggiero pelo tempo que me dedicou, ensinando-me e orientando-me, sempre de maneira afável.

À CAPES, pelo apoio financeiro.



Resumo

O objetivo deste trabalho é estudar o efeito do solvente na conformação de cadeias poligacturônicas ácidas. Primeiramente, calculamos a energia conformacional dos dímeros $GalAH - GalA^-$, $GalAH - GalAH$, $GalA^- - GalAH$ e $GalA^- - GalA^-$ sem a contribuição do solvente e, em seguida, adicionamos à energia conformacional a energia de solvatação. Duas aproximações foram consideradas para o termo de solvatação. Os mapas das energias conformacionais são então utilizados para gerar cadeias com até 300 monômeros, definindo, a priori, a porcentagem de resíduos carregados. A influência da solvatação nas propriedades conformacionais da cadeia é discutida com base nos valores encontrados para a razão característica e o comprimento de persistência. Alguns resultados obtidos teoricamente são comparados a dados experimentais.

Abstract

The purpose of this work is to study the effect of solvent in the conformation of polygalacturonic acid chains. Initially, we calculated the conformational energy of dimers $GalAH - GalA^-$, $GalAH - GalAH$, $GalA^- - GalAH$ and $GalA^- - GalA^-$ without the solvent contribution and, afterwards, we added the solvation contribution to the conformational energy. Two approximations were considered in relation to the solvation term. The conformational energy maps are then used to produce chains with up to 300 monomers having previously been defined the charged residues moiety. The influence of solvation in the chain conformational properties is considered based on determined values of the characteristic ratio and persistence length. Some theoretically obtained results have been compared to experimental data.

Sumário

Introdução	1
1 Estrutura espacial dos polissacarídeos	4
1.1 Notação estrutural	4
1.2 Coordenadas internas	8
1.3 Vetores virtuais	10
1.4 Coordenadas internas independentes	13
2 Mecânica estatística de configuração e conformação de polis-	
sacarídeos	15
2.1 Definições	15
2.2 A função partição para uma cadeia de polissacarídeo	16
2.3 Tratamento de um polissacarídeo randômico	20
2.4 Expressão do potencial	24
2.5 A contribuição das interações não ligadas	25
3 Cálculos eletrostáticos em meio contínuo	30

3.1	Introdução	30
3.2	A equação de Poisson-Boltzmann	32
3.3	Solução numérica da equação de PB e a energia de solvatação via campo de reação	35
3.4	Energia de solvatação usando o modelo WSAS	41
4	Resultados	44
4.1	Energia interna	44
4.2	A solvatação dos dímeros $\alpha - D - galactose$	47
4.3	Propriedades conformacionais da cadeia de ácido poligalacturônico(PGA)	57
4.4	Conclusão	67
A	Solução analítica para o caso de simetria esférica	75
B	Método das diferenças finitas para a equação de PB	79

Introdução

Pesquisas minuciosas sobre os polissacarídeos, uma das maiores classes de macromoléculas biológicas, surgiram na década de 70, devido aos avanços das indústrias alimentícias e farmacêuticas. Os polissacarídeos estão em toda parte na natureza, especialmente nas plantas, algas e bactérias, onde eles freqüentemente aparecem como constituintes predominantes do sistema[1, 2]. Essas macromoléculas funcionam como suporte estrutural nas plantas e animais, por exemplo, a celulose na parede celular das plantas, quitina no esqueleto dos crustáceos, os peptidoglicanos na parede celular bacteriana e no tecido conectivo animal. Elas também servem como reservatório de energia como exemplificado pela amilose e a amilopectina nas plantas e pelo glicogênio nos animais. As unidades monossacarídicas na superfície das células são participantes importantes no processo de reconhecimento de célula a célula.

Métodos teóricos para a análise conformacional têm sido aplicados a biomoléculas com o intuito de elucidar a relação entre a estrutura e a função dessas moléculas[3]. Para calcular as propriedades conformacionais de uma macromolécula podemos utilizar os métodos da Mecânica Estatística em equilíbrio e o interesse na conformação dos biopolímeros está na sua importância para o entendimento de suas propriedades em solução e sua função no sistema biológico[4].

Dessa forma, as dificuldades na descrição das características intra-moleculares da função potencial surgem do fato que as macro-moléculas estão na fase condensada onde as interações inter-moleculares possuem um papel importante na determinação da energia potencial do sistema.

Contudo, uma visão do mundo macroscópico vem sendo utilizada para estudar o mundo microscópico das moléculas. A eletrostática clássica, por exemplo, fornece uma idéia intuitiva que nos ajuda a compreender as propriedades moleculares, e também nos permite fazer previsões de tais propriedades, dependendo da natureza do problema, da disponibilidade de parâmetros adequados, etc. Estas observações nos remetem a base da eletrostática contínua e sua aplicação a sistemas moleculares classicamente descritos[5].

O objetivo deste trabalho é estudar o comportamento de cadeias ácidas poligalacturônicas, com diversos graus de ionização, em solução. Especificamente será testado a influência do solvente quando tratamos as cadeias do ponto de vista dos estados independentes, ou seja, quando fatoramos a energia da cadeia como um somatório sobre as energias diméricas.

À contribuição do solvente serão dados dois tratamentos; um deles é calculando a energia de solvatação como a soma da energia para abrir uma cavidade que comporte o soluto e a energia de polarização do solvente pelas cargas do soluto, através do campo de reação, e o outro no qual a energia de solvatação é obtida da superfície acessível ao solvente de cada espécie iônica, conforme a proposta de Kollman e colaboradores[6].



Capítulo 1

Estrutura espacial dos polissacarídeos

1.1 Notação estrutural

A análise conformacional de biopolímeros é normalmente realizada utilizando uma coleção de coordenadas internas, escolhidas entre os ângulos de valência, extensão da ligação química entre dois átomos e os ângulos torsionais, as quais caracterizam a molécula. As posições relativas de todos os átomos da macromolécula estão sujeitas a especificação em termos dessas coordenadas internas.

Um segmento dimérico representativo de uma cadeia linear de polissacarídeo está descrito na figura 1.1. Os símbolos atômicos $C(m)_i$, $O(m)_i$ e $H(m)_i$ são indexados em parênteses para denotar a posição no anel de açúcar; uma coleção de índices, os quais identificam a posição sequencial de um resíduo de açúcar,



aparece como um subscrito nos símbolos atômicos e aumentam na direção do final redutor da cadeia. Os hidrogênios ligados aos átomos de carbono $C(m)_i$ são omitidos na figura 1.1. O segmento descrito contém resíduos hexapiranosose i e $i + 1$ conectados por uma ligação glicosídica do tipo 1-6.

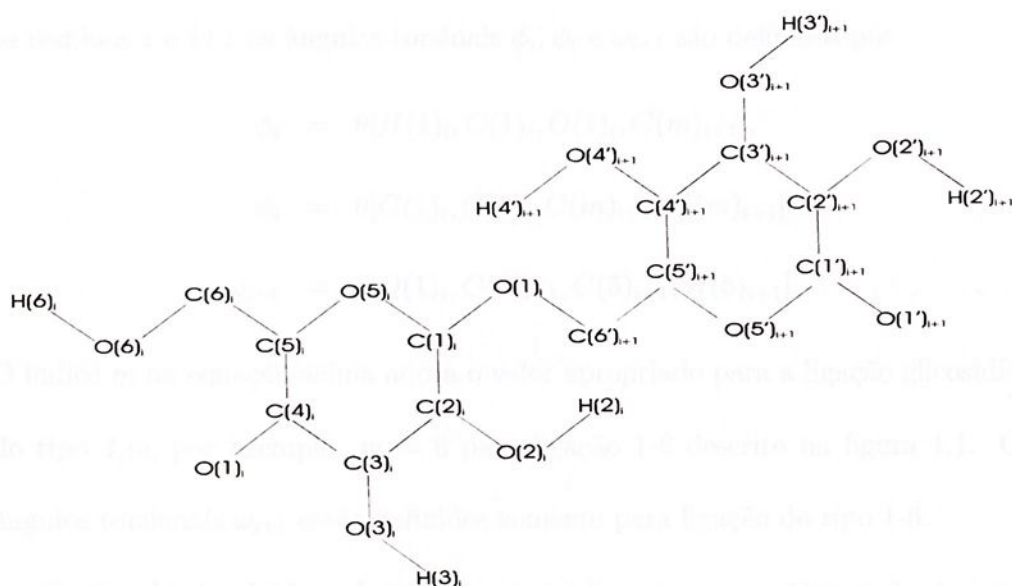


Figura 1.1: Um segmento ilustrativo de uma cadeia de polissacarídeo mostrando os resíduos i e $i + 1$ unidos por uma ligação glicosídica 1-6.

O comprimento da ligação de química pode ser representada por $b[A,B]$ para a ligação A-B entre os átomos A e B, e os ângulos de valência subentendidos pela ligação A-B e B-C são denotados por $\tau[A,B,C]$. O ângulo diedral entre os planos interseccionados definidos pela ligação A-B-C e B-C-D é simbolizado genericamente por $\theta[A,B,C,D]$, e mede a torção em torno da ligação química B-C. A conformação eclipsada (cis planar), na qual as projeções das ligações A-B e C-D coincidem em um plano perpendicular a ligação B-C, corresponde a $\theta = 0^\circ$. Os ângulos torsionais são medidos em um intervalo de -180° a $+180^\circ$.

relativa a esta origem. O sentido da rotação a cerca da ligação B-C corresponde ao movimento horário do último átomo.

As coordenadas θ recebem, por convenção, símbolos específicos de acordo com a região de torção[4]. Por exemplo, na região da ligação glicosídica conectando os resíduos i e $i+1$ os ângulos torsinais ϕ_i , ψ_i e ω_{i+1} são definidos por

$$\phi_i = \theta[H(1)_i, C(1)_i, O(1)_i, C(m)_{i+1}],$$

$$\psi_i = \theta[C(1)_i, O(1)_i, C(m)_{i+1}, H(m)_{i+1}],$$

$$\omega_{i+1} = \theta[O(1)_i, C(6)_{i+1}, C(5)_{i+1}, H(5)_{i+1}].$$

O índice m na equação acima adota o valor apropriado para a ligação glicosídica do tipo $1,m$, por exemplo, $m = 6$ para ligação 1-6 descrito na figura 1.1. Os ângulos torsionais ω_{i+1} estão definidos somente para ligação do tipo 1-6.

Os ângulos torsinais endocíclicos e exocíclicos para o resíduo i são designados, respectivamente, $\nu(m)_i$ e $\chi(m)_i$. Estes ângulos podem ser requeridos para fornecer uma descrição mais detalhada da conformação do anel e a orientação dos grupos laterais. Os índices m são assumidos para anéis hexapiranoses de acordo com a definição dada na equação 1.1 e 1.2

$$\nu(1) = \theta[O(5), C(1), C(2), C(3)],$$

$$\nu(2) = \theta[C(1), C(2), C(3), C(4)],$$

$$\nu(3) = \theta[C(2), C(3), C(4), C(5)],$$

$$\nu(4) = \theta[C(3), C(4), C(5), O(5)], \quad (1.1)$$

$$\nu(5) = \theta[C(4), C(5), O(5), C(1)],$$



$$\nu(6) = \theta[C(5), O(5), C(1), C(2)],$$

e

$$\chi(1) = \theta[O(5), C(1), O(1), HO(1)],$$

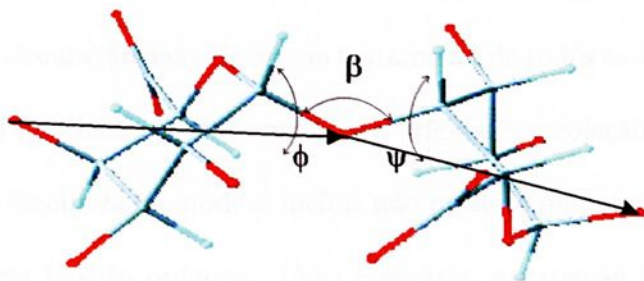
$$\chi(5) = \theta[O(5), C(5), C(6), O(6)], \quad (1.2)$$

$$\chi(m) = \theta[C(m-1), C(m), O(m), HO(m)].$$

para $m = 2, 3, 4$ e 6 . Uma observação deve se feita, na definição de $\chi(1)$ e $\chi(5)$, a escolha do átomo do anel, com respeito ao qual o ângulo χ é definido, é aquele que possui o maior número atômico[9]. Então para $m = 5$, $O(5)$ foi o escolhido ao invés do $C(4)$ e para $m = 1$, $O(5)$ é o escolhido e não o $C(2)$. O ângulo de valência no oxigênio da ligação glicosídica é simbolizado por β_i , para os resíduos i e $i + 1$ e definido por

$$\beta_i = \tau[C(1)_i, O(1)_i, C(m)_{i+1}] \quad (1.3)$$

Na figura abaixo, está ilustrado a região da ligação glicosídica com os ângulos torsionais ϕ e ψ , e o ângulo de valência β , para um dímero de galactose.



1.2 Coordenadas internas

O conjunto de coordenadas internas da cadeia de polissacarídeo contendo N_p átomos denota-se por $\{q_{int}\} = \{b, \tau, \theta\}$. O número total de coordenadas da coleção $\{b, \tau, \theta\}$ excede $3N_p - 6$, porém, uma escolha alternativa de $\{q_{int}\}$ é possível. O procedimento adotado para a análise conformacional é distinguir as coordenadas internas "rígidas" das "flexíveis".

As variações no comprimento da ligação entre dois átomos, as quais causariam uma significativa mudança na conformação molecular, exigem um alto custo energético, e por isso as coordenadas b são tratadas como variáveis "rígidas" assumindo valores fixos de equilíbrio. Por outro lado, pequenas alterações nas coordenadas ϕ, ψ, ω , com baixa variação de energia, podem causar grande mudança conformacional e as alterações das coordenadas τ apresentam consequências intermediárias no que diz respeito ao efeito conformacional e ao gasto de energia. Sendo assim, os ângulos torsionais ϕ, ψ e ω são tratados como variáveis "flexíveis". Os ângulos de valência podem ser tratados como coordenadas "rígidas" ou "flexíveis" dependendo do problema em consideração.

Quando as circunstâncias exigem um tratamento de todos os ângulos de valência como sendo coordenadas conformacionais "rígidas", a coleção de coordenadas $\{q_{int}\}$ deve ser escolhida de modo a incluir não mais do que um ângulo torsional associado a cada ligação química. Caso contrário, a variação independente de dois ângulos torsionais definidos para a rotação em torno de uma mesma ligação,



necessariamente alterará os ângulos de valência entre as ligações conectadas aos átomos terminais da ligação sob a qual a rotação independente acontece.

Com esta restrição em mente, a escolha do conjunto de coordenadas independentes $\{q_{int}\}$ para polímeros de resíduos hexapiranosose contendo N_p átomos e x resíduos de açúcar, pode ser feita como se segue. Para um monossacarídeo, por exemplo, glucose, manose, galactose e etc, o número de átomos é $N_r = 24$ e cada resíduo adicionado para construir o polímero contribui com 21 átomos. Assim, o número total de átomos do polímero será

$$N_p = N_r + 21(x - 1) = 21x + 3 \quad (1.4)$$

e a fórmula geral para este polissacarídeo é $C_{6x}H_{10x+2}O_{5x+1}$. Isso implica que o número total de coordenadas internas $\{q_{int}\}$ necessárias será $63x + 3$. Consideramos o número de coordenadas b, τ e θ no conjunto $\{q_{int}\}$ denotados por N_b, N_τ e N_θ , respectivamente. Para caracterizar a distribuição espacial em coordenadas internas são fundamentais os comprimentos da ligação química b_i . Dessa forma, $N_b = N_r + 22(x - 1) = 22x + 2$. Assumindo pelas razões acima um ângulo torsional por ligação química que não termine em um átomo de hidrogênio, teremos $N_\theta = 12x$. Esses ângulos são os seis ângulos torsionais endocíclicos $\nu(1)$ até $\nu(6)$ mais os ângulos torsionais exocíclicos escolhidos dentre aqueles rotulados ϕ, ψ, ω e $\chi(1)$ até $\chi(6)$.

Finalmente, incluímos em $\{q_{int}\}$ os ângulos de valência em todos os carbonos

(tetraedros). Este procedimento resulta $N_\tau = 35x + 1$. A soma $N_b + N_\tau + N_\theta = 69x + 3$ excede $3N_p - 6$ por $6x$. Esta redundância será ignorada nos cálculos conformacionais, fazendo com que $\{q_{int}\}$ seja consistente; $6x$ pode ser eliminado excluindo de $\{q_{int}\}$ uma extensão da ligação química, dois ângulos de valência e três ângulos torsionais por resíduo, como será descrito na secção 1.4.

1.3 Vetores virtuais

A análise teórica das conformações moleculares envolve cálculos de vetores relacionando partes de uma mesma molécula. Os cálculos das distâncias relativas e orientações mútuas dos movimentos moleculares são efetuados usando manipulações de vetores e a informação assim obtida pode ser usada para acessar a contribuição de várias interações intra e intermolecular para a estabilidade conformacional do sistema.

Primeiramente, definimos para um polissacarídeo não ramificado uma sequência atômica chamada de cadeia principal. Esta cadeia deve evidentemente envolver átomos da região de ligação entre os açúcares mais a sequência de átomos que atravessa cada resíduo para conectar as ligações glicosídicas. Escolhemos aquele circuito através de cada resíduo de açúcar que não contém o oxigênio do anel. Com referência a figura 1.1, o segmento da cadeia principal pode ser então especificado como a sequência de átomos:



$$O(1)_{i-1} \rightarrow C(4)_i \rightarrow C(3)_i \rightarrow C(2)_i \rightarrow C(1)_i \rightarrow O(1)_i \rightarrow C(6)_{i+1} \rightarrow$$

$$C(5)_{i+1} \rightarrow C(4)_{i+1} \rightarrow C(3)_{i+1} \rightarrow C(2)_{i+1} \rightarrow C(1)_{i+1} \rightarrow O(1)_{i+1}$$

Um conjunto de índice j pode ser associado com cada ligação da cadeia da principal de forma que aumenta de 1 até n na direção do aumento do índice i do resíduo. Os ângulos torsinais definidos pelas ligações $j-1, j$ e $j+1$ e os ângulos de valência sub-entendidos pelas ligações j e $j+1$ são denotados por θ_j e τ_j , respectivamente. A cada uma das ligações j de extensão b_j conectando os átomos A e B associa-se um vetor $b = b[A, B]$ com componentes $(b[A, B], 0, 0)$ em um sistema cartesiano no qual o eixo x_j encontra-se ao longo da ligação j com o seu sentido positivo na direção de aumento de j . O eixo y_j pertence ao plano $j-1$ e j com sua direção positiva escolhida para reproduzir sua projeção no eixo x_{j-1} positivo.

A adição vetorial de vetores $\mathbf{b}_j$, referente a uma base comum, produz vetores que ligam quaisquer pares de átomos da cadeia principal. A transformação para uma base comum pode ser efetuada usando a matriz ortogonal $\mathbf{T}_j(\theta_j, \tau_j)$ definida para transformar para o sistema de coordenadas j algum vetor $\mathbf{v}^{(j+1)}$ referido originalmente na base do sistema $j+1$: $\mathbf{v}^j = T_j \mathbf{v}^{(j+1)}$ [12].

$$\mathbf{T}_j(\theta_j, \tau_j) = \begin{bmatrix} \cos(\pi - \tau_j) & \sin(\pi - \tau_j) & 0 \\ \sin(\pi - \tau_j) \cos \theta_j & -\cos(\pi - \tau_j) \cos \theta_j & \sin \theta_j \\ \sin(\pi - \tau_j) \sin \theta_j & -\cos(\pi - \tau_j) \sin \theta_j & -\cos \theta_j \end{bmatrix}. \quad (1.5)$$

Com este dispositivo o vetor soma $\mathbf{r}$ dos vetores da ligação j da cadeia principal até $j + k$, todos referidos a base j , podem ser escritos

$$\mathbf{r} = \mathbf{b}_j + \mathbf{T}_j \mathbf{b}_{j+1} + \mathbf{T}_j \mathbf{T}_{j+1} \mathbf{b}_{j+2} + \mathbf{T}_j \mathbf{T}_{j+1} \mathbf{T}_{j+2} \mathbf{b}_{j+3} + \dots + \mathbf{T}_j \mathbf{T}_{j+1} \dots \mathbf{T}_{j+k-1} \mathbf{b}_{j+k}. \quad (1.6)$$

Os cálculos envolvendo os átomos além daqueles contidos na cadeia principal podem ser levados em conta usando uma extensão direta do método acima. Os demais átomos do açúcar, bem como qualquer anel substituinte, incluindo cadeias ramificadas, são todos susceptíveis ao tratamento no mesmo formalismo.

A complexidade dos cálculos conformacionais de polissacarídeos é significativamente reduzida pela regularidade e rigidez na estrutura do anel. Então, a suposição comum da rigidez do resíduo piranose na forma de cadeira torna constante todas as matrizes $\mathbf{T}_j$ para as transformações de coordenadas da cadeia principal exceto aquelas que envolvam os ângulos torsionais para as rotações na ligação glicosídica. A rigidez do resíduo i na figura 1 implica, por exemplo, que as distâncias $O(1)_{i-1} \dots O(1)_i$ são fixas.

Em algumas considerações é conveniente estabelecer um vetor residual ou vetor virtual ligando esses oxigênios glicosídicos [13]. Todos os vetores associados a um dado resíduo podem então serem referidos a um sistema de coordenadas fixado a ligação virtual e as transformações dentro dos sistemas de coordenadas da ligação virtual efetuadas com matrizes $\mathbf{T}$, as quais dependem somente das torsões em ϕ, ψ e ω (na região glicosídica).



1.4 Coordenadas internas independentes

A redundância nas coordenadas $\{q_{int}\}$, citadas na secção 1.2, surge da ocorrência da estrutura cíclica na armação molecular do polissacarídeo. Isto pode ser melhor compreendido fazendo uma consideração das coordenadas do oxigênio $O(5)_i$ na figura 1. A posição deste átomo pode ser especificada, relativo a um sistema de coordenadas da cadeia principal da ligação $C(2)_i \rightarrow C(1)_i$ (vetor j) por $b[C(2)_i, C(1)_i] + T(\theta_j, \tau_j)b[C(1)_i, O(5)_i]$. Aqui, o vetor $b[C(2)_i, C(1)_i]$ tem componentes $(b[C(2)_i, C(1)_i], 0, 0)$ nos sistema de coordenadas da ligação $C(2)_i \rightarrow C(1)_i$, enquanto $b[C(1)_i, O(5)_i]$ tem componentes expressas relativo ao sistema de coordenadas associados com a ligação $C(1)_i \rightarrow O(5)_i$.

As variáveis angulares de $T(\theta_j, \tau_j)$ são definidas por $\tau_j = \tau[C(2)_i, C(1)_i, O(5)_i]$ e $\theta_j = \nu(1)_i \pm \delta$. O ângulo fase δ é aquele requerido a relacionar $\nu(1)_i = \theta[C(3)_i, C(2)_i, C(1)_i, O(5)_i]$ ao ângulo torsional da cadeia principal $\theta[C(3)_i, C(2)_i, C(1)_i, O(1)_i]$. Uma prescrição similar bastaria para fixar a localização de $O(5)_i$ relativo a um sistema de coordenadas de uma cadeia ramificada com a ligação $C(4)_i \rightarrow C(5)_i$ usando a $T(\theta_s, \tau_s)$ apropriada para o sistema de coordenada da ligação $O(1)_{i-1} \rightarrow C(4)_i$. Uma ou outra descrição da localização de $O(5)_i$ é supérfluo. Logo, as coordenadas $b[C(1)_i, O(5)_i]$ e $\tau_j = \tau[C(2)_i, C(1)_i, O(5)_i]$ do conjunto $\{q_{int}\}$ deve ser redundante.

Na prática, isto é mais simples quando consideramos $O(5)_i$ ligado no $C(1)_i$ assumindo que as 3 coordenadas redundantes são $b[C(5)_i, O(5)_i]$, $\tau[C(4)_i,$



$C(5)_i, O(5)_i]$ e $\tau[O(5)_i, C(5)_i, C(6)_i]$ e também, da mesma forma, torna-se superfluo os ângulos torsionais $\nu(5)_i$ e $\nu(6)_i$ e o ângulo de valência $\epsilon_i = \tau[C(5)_i, O(5)_i, C(1)_i]$ do conjunto $\{q_{int}\}$. Assim, a característica cíclica do resíduo de açúcar faz com que exista redundância em uma extensão de ligação, dois ângulos torsionais e três ângulos de valência e esta redundância pode ser removida, se desejada, excluindo as coordenadas aqui especificadas para cada resíduo na cadeia, ou seja, $6x$ no total.

Capítulo 2

Mecânica estatística de configuração e conformação de polissacarídeos

2.1 Definições

O objetivo da análise conformacional é fornecer uma relação entre as *características estruturais* da macromolécula e as *propriedades físicas e biológicas* de uma molécula ou grupo de moléculas. Para esta finalidade, estabelecemos uma cadeia modelo para a macromolécula, fazendo uso de uma expressão em termos de um conjunto de parâmetros que descrevem os detalhes estruturais da cadeia. Os parâmetros convencionais envolvem uma descrição da forma molecular em termos das ligações químicas, ângulos de valência e ângulos torsionais em torno



das ligações químicas.

Para moléculas com muitos átomos, podendo existir assim uma variedade de conformações diferentes de energia similar, o modelo de cadeia está completo somente se ele incluir uma descrição da superfície de energia conformacional para a molécula, ou seja, uma descrição da energia molecular como função de alguns parâmetros geométricos os quais descrevem a forma molecular. A superfície conformacional da molécula, de acordo com a aproximação feita, dependerá somente das variações nos ângulos torsinais da região glicosídica, isto é, das mudanças em ϕ , ψ , e ω .

2.2 A função partição para uma cadeia de polissacarídeo

Considere um sistema contendo uma única molécula de polissacarídeo com N_p átomos em um meio com N_s átomos que constituem as moléculas do solvente. Logo, o número total de átomos do sistema é $N = N_p + N_s$. Se $\{q\}$ é o conjunto de coordenadas cartesianas que localizam os N átomos relativo um sistema de coordenadas fixo, e $\{p\}$ o conjunto de momentos para o sistema a uma temperatura T e confinado em um volume V , então, a função partição canônica Q para o sistema é dada por[17]



$$Q = \left(\frac{1}{h}\right)^{3N} \int \dots \int \exp[-\beta H(\{p, q\})] d\{p\} d\{q\}. \quad (2.1)$$

onde h é a constante de Planck, $\beta = (kT)^{-1}$, onde k é a constante de Boltzmann e $H(\{p, q\})$ é a Hamiltoniana clássica dada por:

$$H(\{p, q\}) = T(\{p\}) + U(\{q\}) \quad (2.2)$$

em termos da energia cinética $T(\{p\})$ e da energia potencial $U(\{q\})$ do sistema.

Os símbolos $d\{q\}$ e $d\{p\}$ implicam, respectivamente, o produto diferencial das coordenadas e dos momentos para as N partículas, e a integral é sobre todos os valores do momento e todos os valores das coordenadas, consistentes com o volume. Resolvendo a integral 2.1 em termos dos momentos cartesianos e integrando sobre todas essas variáveis na forma usual[17] temos:

$$Q = \frac{Z_N}{\prod_{i=1}^N \Lambda_i^3}. \quad (2.3)$$

onde $\Lambda_i = \frac{h}{\sqrt{2\pi m_i kT}}$ é o comprimento de onda térmico de de Broglie para um átomo de massa m_i a temperatura T , e Z_N é a integral de configuração clássica definida por:

$$Z_N = \int \dots \int_V \exp[-\beta U(\{q\})] d\{q\} \quad (2.4)$$

Se considerarmos $\{q\} = \{q'_{int}, q_{ext}\}$, onde $\{q'_{int}\}$ e $\{q_{ext}\}$ representam o conjunto

das coordenadas dos átomos da macromolécula e do meio ambiente, respectivamente, a integral de configuração será:

$$Z_N = \int \dots \int_V \exp[-\beta U(\{q'_{int}, q_{ext}\})] d\{q'_{int}\} \mathfrak{S}_{ext} d\{q_{ext}\} \quad (2.5)$$

onde a quantidade $\mathfrak{S}_{ext}$ é o Jacobiano da transformação para as novas coordenadas, necessário para gerar um elemento de volume para a integração nas componentes angulares de $\{q_{ext}\}$ sobre o volume do sistema[18, 19].

Dificuldades associadas com a especificação da dependência de U nas $\{q_{ext}\}$, podem ser contornadas através de uma integração puramente formal nas coordenadas externas, mantendo $\{q_{int}\}$ fixas, para produzir[11, 19, 20]

$$Z_N = C_{ext} \int \dots \int_V \exp[-\beta \bar{U}(\{q'_{int}\})] d\{q'_{int}\} \quad (2.6)$$

onde C_{ext} é uma constante necessária para manter as dimensões corretas na equação 2.6 e é dada por

$$C_{ext} = \int \dots \int_V \mathfrak{S}_{ext} d\{q_{ext}\} = V^{N_s+2} \quad (2.7)$$

e a quantidade $\bar{U}(\{q'_{int}\})$, dependente da temperatura, pode ser entendida como energia livre e está relacionada com o potencial de força média sendo definida por:

$$\bar{U}(\{q'_{int}\}) = -\beta^{-1} \ln \left(\frac{\int \dots \int_V \exp[-\beta U(\{q'_{int}, q_{ext}\})] \mathfrak{S}_{ext} d\{q_{ext}\}}{C_{ext}} \right) \quad (2.8)$$

A integral de configuração da equação 2.6 envolve somente coordenadas internas da macromolécula.

As contribuições das interações entre as moléculas do solvente entre si e com o polímero foram levadas em conta na integração sobre $\{q_{ext}\}$ e incorporadas no potencial de força média ou energia configuracional $\bar{U}(\{q'_{int}\})$, a qual descreve a energia da cadeia em cada conformação possível mediada sobre todas as interações intermoleculares entre o polímero e as moléculas do solvente.

Se pensarmos em $U(\{q'_{int}, q_{ext}\})$ como uma energia potencial mecânica então ela pode ser escrita como a soma de um termo $u(\{q'_{int}\})$, que depende somente das interações intra-moleculares, com um termo intermolecular $u(\{q'_{int}, q_{ext}\})$, e o termo $u(\{q'_{int}\})$ permanece inalterado como uma contribuição aditiva para $\bar{U}(\{q'_{int}\})$, enquanto $\bar{u}(\{q'_{int}\})$ surge da mediação de $u(\{q'_{int}, q_{ext}\})$ sobre todas as coordenadas externas com as internas fixas. Assim

$$\bar{U}(\{q'_{int}\}) = u(\{q'_{int}\}) + \bar{u}(\{q'_{int}\}) \quad (2.9)$$

e a energia de configuração $\bar{U}(\{q'_{int}\})$ contém contribuições dependentes e independentes da temperatura[19].

É conveniente, em muitos casos, decompor a energia de configuração de uma cadeia de polímero contendo x segmentos em uma soma de contribuições associadas a cada um dos segmentos. Assim podemos escrever

$$\bar{U}(\{q'_{int}\}) = \sum_{i=1}^x \bar{U}_i(\{q'_{int}\}), \quad (2.10)$$

onde as contribuições $\bar{U}_i(\{q'_{int}\})$ são usualmente conhecidas como *energias conformacionais* [21].

A transformação das coordenadas internas cartesianas $\{q'_{int}\}$ em coordenadas polares $\{q_{int}\}$ descrita na secção 1.2 é feita formalmente escrevendo

$$Z_N = C_{ext} \int \dots \int_V \exp[-\beta \bar{U}(\{q_{int}\})] \mathfrak{S}_{int} d\{q_{int}\}, \quad (2.11)$$

onde $\{q_{int}\}$ é identificado aqui com o conjunto de coordenadas não redundantes $\{b, \tau, \theta\}$ e $d\{q_{int}\} = d\{b\}d\{\tau\}d\{\theta\}$.

Pode ser mostrado, formalmente, que o Jacobiano $\mathfrak{S}_{int}$ depende apenas do comprimento da ligação e dos ângulos de valência do conjunto $\{b, \tau, \theta\}$ [18]. Consequentemente, ele é substituído por $\bar{\mathfrak{S}}_{int}(\{\bar{b}, \bar{\tau}\})$, onde $\bar{b}$ e $\bar{\tau}$ se referem aos valores médios dessas variáveis[18]. Logo, a energia configuracional torna-se:

$$Z_N = C_{ext} \bar{\mathfrak{S}}_{int} \int \dots \int_V \exp[-\beta \bar{U}(\{b, \tau, \theta\})] d\{b\}d\{\tau\}d\{\theta\}. \quad (2.12)$$

2.3 Tratamento de um polissacarídeo randômico

Com poucas exceções[22], é usual, no tratamento de macromoléculas aleatoriamente enroladas em solução, reduzir a dimensionalidade da equação considerando



apenas a integral sobre um número mínimo de variáveis conformacionais "flexíveis". Isto pode ser efetuado substituindo em $\bar{U}(\{b, \tau, \theta\})$ as variáveis "rígidas" $\{b\}$ e $\{\tau\}$ e algumas variáveis "rígidas" $\{\theta_r\}$ do conjunto $\{\theta\}$, por exemplo, os ângulos torsionais endo e exocíclicos, pelo seus valores médios $\{\bar{b}\}$, $\{\bar{\tau}\}$ e $\{\bar{\theta}_r\}$.

Com as substituições propostas acima, Z_N é uma integral nas coordenadas "flexíveis" $\{\theta_f\}$ somente. Esta aproximação é equivalente a integrar a equação 2.12 nas variáveis $\{b\}$, $\{\tau\}$ e $\{\theta_r\}$ para $\{\theta_f\}$ fixas[11]

$$Z_N = C_{ext} C_{int} \bar{\mathfrak{S}}_{int} Z_{\{\theta_f\}} \quad (2.13)$$

onde novamente os fatores introduzidos C_{int} e $Z_{\{\theta_f\}}$ são definidos por:

$$C_{int} = \int \dots \int_V d\{b\} d\{\tau\} d\{\theta_r\}, \quad (2.14)$$

e

$$Z_{\{\theta_f\}} = \int \dots \int \exp[-V(\{\theta_f\})] d\{\theta_f\} \quad (2.15)$$

com

$$V(\{\theta_f\}) = -\beta^{-1} \ln \left(\frac{\int \dots \int_V \exp[-\beta \bar{U}(\{b, \tau, \theta_r\})] d\{b\} d\{\tau\} d\{\theta_r\}}{C_{int}} \right) \quad (2.16)$$

$$= -\beta^{-1} \ln \left(\frac{\int \dots \int_V \exp[-\beta \bar{U}(\{q_{int}, q_{ext}\})] \mathfrak{S}_{ext} d\{q_{ext}\} d\{b\} d\{\tau\} d\{\theta_r\}}{C_{int} C_{ext}} \right) \quad (2.17)$$

a combinação da equação 2.13 com a 2.3 produz a função partição canônica Q

$$Q = \left(\frac{C_{ext} C_{int} \bar{\mathfrak{S}}_{int}}{\prod_{i=1}^N \Lambda_i^3} \right) Z_{\{\theta_f\}}. \quad (2.18)$$

O fator adimensional entre parênteses na equação 2.18 é uma constante a temperatura fixa e independente de $\{\theta_f\}$ de modo que as propriedades macro-moleculares dependentes da configuração são calculáveis a partir de $Z_{\{\theta_f\}}$ apenas, quando for especificado. A energia configuracional $V(\{\theta_f\})$ vista da equação 2.8, 2.16 e 2.17 é um potencial de força média para a molécula com respeito as variáveis torsionais as quais especificam a conformação macromolecular, sujeita primeiramente a uma média sobre a configuração do espaço das moléculas do meio, e sobre as variáveis conformacionais "rígidas" da macromolécula [11].

De acordo com a decomposição sugerida na equação 2.10, da energia configuracional para a cadeia macromolecular em contribuições aditivas da energia conformacional de segmentos da cadeia, podemos escrever

$$V(\{\theta_f\}) = \sum_{i=1}^x V_i(\{\theta_f\}), \quad (2.19)$$

onde, como antes, x é o número total de segmentos.

A avaliação das propriedades dependentes da configuração a partir de $Z_{\{\theta_f\}}$, usando métodos existentes[11, 12], requer que cada V_i dependa de um número



modesto de variáveis do conjunto θ_f . Condições experimentais, consistentes com esta limitação no caráter da energia conformacional, existem para cada espécie molecular em solução, e são chamadas de condições θ onde as interações entre segmentos distantes ao longo da cadeia, são compensadas pelas interações atrativas entre os segmentos e o solvente [23, 24]. Sob essas condições, a energia conformacional do segmento i depende somente daquelas variáveis da coleção $\{\theta_f\}$ associadas com o segmento i e seus vizinhos imediatos, e os resultados experimentais obtidos em tal meio, podem ser comparados aos resultados teóricos.

O tratamento estatístico configuracional de polissacarídeo é efetuado através das aproximações expressas na equação

$$V(\{\theta_f\}) = \sum_{i=1}^x V_i(\phi_i, \psi_i, \omega_{i+1}), \quad (2.20)$$

a qual implica que a energia conformacional para cada segmento da cadeia, aqui definida como sendo um resíduo de açúcar, depende somente dos ângulos de rotação interna associados com uma única ligação glicosídica. O uso da equação 2.20 corresponde a suposição de que as variáveis configuracionais da cadeia aparecem em posições independentes umas das outras, isto é, as interações significativas ocorrem entre o primeiro resíduo vizinho.



2.4 Expressão do potencial

A energia configuracional da cadeia, como já mencionado no capítulo anterior, pode ser expressa como sendo a soma de dois termos; um deles referente a energia estritamente mecânica de interação intramolecular $u_i(\{q_{int}\})$ e o outro termo $\bar{u}_i(\{q_{int}\})$ dependente da temperatura que reflete a média das interações intermoleculares. Então,

$$\bar{U}(\{q_{int}\}) = u(\{q_{int}\}) + \bar{u}(\{q_{int}\}), \quad (2.21)$$

onde $\{q_{int}\} = \{b, \tau, \theta\}$. De forma análoga, a energia conformacional $V(\{\theta_f\})$ pode ser definida como

$$V(\{\theta_f\}) = v(\{\theta_f\}) + \bar{v}(\{\theta_f\}) \quad (2.22)$$

Neste caso $\bar{v}(\{\theta_f\})$ é também uma quantidade mediada sobre as várias variáveis conformacionais "rígidas" da macromolécula.

A forma da energia intramolecular $u(\{q_{int}\})$, em uma aproximação clássica ou empírica, é obtida de uma maneira consistente com as perspectivas estruturais da química, a qual tem nos levado a escolha dos comprimentos de ligação, ângulos de ligação e ângulos torsionais internos para a elaboração do conjunto $\{q_{int}\}$. Assim $u(\{q_{int}\})$ é usualmente escrita como uma função explícita dessas variáveis, como mostra a equação 2.23.



$$u(\{q_{int}\}) = \sum_j K_j^b (b_j - b_j^0)^2 + \sum_k K_k^\tau (\tau_k - \tau_k^0)^2 + \sum_l K_l^\theta (1 + \cos n_l \theta_l) + \sum_{m,n} E(r_m, r_n). \quad (2.23)$$

O primeiro termo é quadrático no deslocamento da extensão da ligação b_j de algum valor assumido b_j^0 e a soma é sobre todas as ligações químicas j da cadeia.

O segundo termo, estritamente análogo ao primeiro, considera as contribuições para a energia conformacional que surgem do deslocamento do ângulo de valência τ_k a partir do valor médio τ_k^0 .

O termo no ângulo torsional θ_l é escrito com uma função periódica para refletir a energia de força torsional. A periodicidade n_l é frequentemente considerada igual a 3, mas pode diferir deste valor se a simetria do segmento molecular assim obrigar. O último termo da equação 2.23 representa a interação entre dois átomos não ligados quimicamente e a soma se estende a todos os átomos da molécula. Um par de átomos é considerado não ligado quimicamente quando estão separados por três ou mais ligações químicas. Alguns campos de força na literatura reservam um tratamento especial para essa interação quando o par de átomos está separado por três ligações, pois neste caso, existem também o termo de interação torsional e os dois termos somados é que deve representar a interação desse par de átomos.

2.5 A contribuição das interações não ligadas

A energia de interação não ligada é aditiva nos pares de átomos m, n e depende



somente da distância entre os centros desses átomos, $r_{m,n}$, a qual pode ser calculada usando os métodos descritos com referência a equação 1.6. As interações não ligadas, representadas pelo último termo na equação 2.23, evidentemente possuem um papel dominante na determinação da conformação acessível de grandes moléculas que possuem muitos graus de liberdade. Assim, incluídos na $E(r_{m,n})$ estão as interações repulsivas de van der Waals dos átomos que se aproximam uns dos outros, as interações atrativas de van der Waals (ou forças de London), as quais dominam a mútuas distâncias ligeiramente grandes, as interações eletrostáticas entre átomos carregados ou parcialmente carregados e finalmente, as interações do tipo ponte de hidrogênio entre os grupos apropriados.

A expressão que leva em conta a contribuição de van der Waals (atração e repulsão) para $E(r_{m,n})$ é então

$$E_v(r_{m,n}) = \frac{A_{m,n}}{r_{m,n}^{12}} - \frac{C_{m,n}}{r_{m,n}^6} \quad (2.24)$$

A contribuição eletrostática $E_{el}(r_{m,n})$ para a interação não ligada tem sido frequentemente expressa em termos de uma interação de Coulomb das cargas q_m localizadas no centro atômicos, através da equação 2.25

$$E_{el}(r_{m,n}) = \frac{332q_mq_n}{\epsilon r_{m,n}} \quad (2.25)$$

onde ϵ é a constante dielétrica do meio e o fator numérico 332 produz energias em $kcal/mol$ para distâncias dadas em unidades de Ângstron e as cargas em frações



de uma carga eletrônica.

As interações do tipo ponte de hidrogênio intramolecular também contribuem para o potencial não ligado $E(r_{m,n})$. Na literatura[4], encontramos algumas formas de representar teoricamente essas interações. Então, a energia total para interação não ligada de par de átomos m, n será dada por,

$$E(r_{m,n}) = E_v(r_{m,n}) + E_{el}(r_{m,n}) + E_h(r_{m,n}) \quad (2.26)$$

Quando as energias conformacionais do tipo $V(\{\theta_f\})$ são requeridas, as mesmas são expressas simplesmente pelos dois últimos termos da equação 2.23, e então,

$$v(\{\theta_f\}) = \sum_l K_l^\theta (1 + \cos n_l \theta_l) + \sum_{m,n} E(r_{m,n}) \quad (2.27)$$

A soma sobre l na equação 2.27 inclui somente os ângulos torsionais flexíveis da cadeia. Os parâmetros K_l^θ e vários parâmetros do potencial não ligado agora possuem um sentido formalmente diferente do significado que possuíam quando todos os termos da equação 2.23 estão incluídos. Neste caso, eles devem refletir também, evidentemente de alguma maneira não específica, os movimentos vibracionais médios associados com as variáveis conformacionais "rígidas" da macromolécula.

As respectivas contribuições intermoleculares mediadas $\bar{u}(\{q_{int}\})$ e $\bar{v}(\{\theta_f\})$ para $\bar{U}(\{q_{int}\})$ e $V(\{\theta_f\})$ são usualmente ignoradas. Quando a atenção está voltada para as propriedades dependentes da configuração de cadeia de



polímeros não perturbada, $\overline{U}(\{q_{int}\})$ e $V(\{\theta_f\})$ precisam refletir somente as interações de curto alcance na sequência da cadeia.

Com relação a este trabalho, os resultados que serão apresentados mais adiante foram obtidos usando uma função potencial na qual consideramos ausente a contribuição do termo torsional para a energia conformacional interna, ou seja, os ângulos ϕ e ψ podem variar livremente e, além disso, assumimos que as interações do tipo ponte de hidrogênio intramolecular estão sendo consideradas no termo de Coulomb e de van der Waals por meio dos parâmetros $q_n, A_{m,n}$ e $B_{m,n}$. Os ângulos de valência na equação 2.23 referem-se, agora, somente aos ângulos de valência das regiões glicosídicas da cadeia, pois os demais serão tratados como fixos, bem como a extensão de todas as ligações químicas da molécula. Sendo assim, a função potencial para a energia interna será dada somente por

$$U(\{q_{int}\}) = \sum_k K_k^T (\tau_k - \tau_k^0)^2 + \sum_{m,n} E_v(r_{m,n}) + \sum_{m,n} E_{el}(r_{m,n}) \quad (2.28)$$

A constante de força K_k^T é igual a $0.02763 \text{ Kcal.}(mol.grau^2)^{-1}$, $\tau_k^0 = 113.8$, o valor médio do ângulo de valência, e os valores de τ_k variam de 110° a 119° . Os valores de $A_{m,n}$ e $C_{m,n}$, no termo de van der Waals, foram estimados por David Brant[4]. Assumimos que nossa molécula possui uma constante dielétrica igual a 2. Na tabela abaixo, estão os valores utilizados para cargas atômicas, que foram obtidos através de cálculos semi-empíricos feitos com o pacote MOPAC(versão 5.0).



Tabela 2.1: Valores das cargas atômicas.

tipo de átomo	Carga atômica (em frações da carga do elétron)
<i>O1</i>	-0.296
<i>C1</i>	0.138
<i>H1</i>	0.135
<i>C2</i>	-0.010
<i>OH2</i>	-0.053
<i>H2</i>	0.113
<i>C3</i>	0.060
<i>OH3</i>	-0.078
<i>H3</i>	0.150
<i>C4</i>	-0.031
<i>H4</i>	0.132
<i>O4</i>	-0.128
<i>C5</i>	-0.025
<i>O5</i>	-0.241
<i>H5</i>	0.133
<i>C6</i>	0.305
<i>OH6</i>	-0.152
<i>O6</i>	-0.566

Capítulo 3

Cálculos eletrostáticos em meio contínuo

3.1 Introdução

Os efeitos eletrostáticos influenciam vários aspectos de quase todas as reações químicas e também, devido a intensidade de sua força e sua natureza de longo alcance, essas interações são criticamente importantes na compreensão do comportamento molecular[25]. O cálculo das interações eletrostáticas é freqüentemente feito usando modelos contínuos[5].

Na teoria eletrostática contínua, o potencial eletrostático, por exemplo, é obtido resolvendo a equação de Poisson-Boltzmann(PB) através de algum método numérico, uma vez que a geometria molecular é arbitrária e os dielétricos são não uniformes. A grande simplificação no modelo de PB é usar o *potencial ele-*

trostático médio para dar uma estimativa do *potencial de força média* que governa a distribuição de íons móveis no solvente[26].

Esta aproximação parte da combinação da eletrostática contínua com uma descrição mecânico estatística simples dos íons móveis em solução, de modo que o potencial médio e a distribuição média de íons sejam obtidos diretamente da solução da equação de PB. Neste modelo, o soluto é descrito por uma constante dielétrica interna e um conjunto de cargas e raios atômicos; o solvente é descrito pela sua constante dielétrica(externa) e um raio de prova; os íons móveis são descritos por cada espécie de carga, q_i , pela concentração no bulk, c_i^∞ , e por seu raio atômico.

As cargas do soluto formam a distribuição de cargas fixas ρ^f . Os raios atômicos e o raio de prova do solvente definem a superfície acessível ao solvente, que combinada com o solvente e a permissividade interna produz a permissividade dependente da posição. Igualmente, os raios atômicos e iônicos combinam-se para definir a região acessível para cada espécie iônica. Por simplicidade, assume-se que os raios iônicos são idênticos.

Em muitos casos, incluindo aplicações a biomoléculas, técnicas numéricas são requeridas. Existem alguns métodos disponíveis para resolver numericamente a equação de PB, como, por exemplo, o método das diferenças finitas[5], método do elemento finito[27], e o método de elemento de fronteira[28]. Neste trabalho, utilizamos o pacote MEAD(Macroscopic Electrostatics with Atomic Detail)[29] que resolve a equação de PB linear através do método numérico das diferenças



finitas, como será mostrado mais adiante.

3.2 A equação de Poisson-Boltzmann

A equação de Poisson pode ser obtida mediante a combinação da lei de Gauss, na forma diferencial, para meios dielétricos caracterizados pela constante dielétrica ϵ

$$\nabla \cdot \vec{E} = \frac{4\pi\rho}{\epsilon} \quad (3.1)$$

com a equação que relaciona o campo elétrico $\vec{E}$ com o gradiente negativo do potencial elétrico,

$$\vec{E} = -\nabla\psi \quad (3.2)$$

ou seja

$$\nabla^2\psi = -\frac{4\pi\rho}{\epsilon} \quad (3.3)$$

que é a equação de Poisson. O operador ∇^2 é chamado de operador laplaciano. A equação 3.3 estabelece a relação existente entre uma certa distribuição de carga $\rho(\vec{r})$ e o potencial elétrico gerado por ela, $\psi(\vec{r})$. Em um sistema, onde o espaço é não homogêneo, ou seja, há uma fronteira dielétrica, a equação 3.3 deve levar em conta as cargas de polarização na fronteira dielétrica, e isso é efetuado através da derivada da constante dielétrica dependente do espaço,

$$\nabla \cdot \epsilon(\vec{r}) \nabla \psi(\vec{r}) = 4\pi \rho(\vec{r}) \quad (3.4)$$

Se estiver presente no sistema uma certa concentração de íons, a distribuição deles será dada por uma distribuição de Boltzmann dependendo do potencial de força média para exprimir o efeito médio do sistema em uma partícula. O nome "potencial de força média" vem do fato que o gradiente deste potencial, com respeito às coordenadas da partícula, dá a força média que atua sobre a partícula. Então, sendo $\langle \phi \rangle$ o potencial de força média, a distribuição de Boltzmann para os íons é dada por:

$$c_i = c_i^\infty \exp \left[\frac{-\langle \phi \rangle}{kT} \right] \quad (3.5)$$

onde c_i é a densidade de íons da espécie i em alguma região do espaço, c_i^∞ é a concentração de íons i a uma distância infinita da molécula (ou seja, na ausência de interação com outras partículas do sistema), k é a constante de Boltzmann e T é a temperatura ambiente.

Com a suposição de que os íons são distribuídos de acordo com a distribuição de Boltzmann e que a energia eletrostática (a carga q_i multiplicada pelo potencial eletrostático ψ) "igualar-se" ao potencial de força média, a distribuição de carga iônica é dada por:

$$\rho = \sum_i c_i^\infty z_i q \exp \left[\frac{-z_i q \psi(\vec{r})}{kT} \right] \quad (3.6)$$



onde z_i é a valência do íon i e q é a carga elementar. A equação 3.4, para um sistema contendo íons móveis e cargas fixas, torna-se a equação de Poisson-Boltzmann(PB)

$$\nabla \cdot \epsilon(\vec{r}) \nabla \psi(\vec{r}) = 4\pi \rho^f(\vec{r}) - 4\pi \sum_i c_i^\infty z_i q \exp \left[\frac{-z_i q \psi(\vec{r})}{kT} \right] \lambda(\vec{r}) \quad (3.7)$$

onde $\rho^f(\vec{r})$ inclui agora somente as cargas moleculares e $\lambda(\vec{r})$ descreve a acessibilidade aos íons no ponto $\vec{r}$, igualando-se a 1 nas regiões acessíveis aos íons e a 0 em qualquer outra parte.

Esta equação pode ser "linearizada" sob a suposição de que a energia eletrostática é muito menor que kT :

$$\nabla \cdot \epsilon(\vec{r}) \nabla \psi(\vec{r}) = 4\pi \rho^f(\vec{r}) + 4\pi \left(\frac{\sum_i c_i^\infty z_i^2 q^2 \psi(\vec{r})}{kT} \right) \lambda(\vec{r}) \quad (3.8)$$

onde o termo $4\pi \sum_i c_i^\infty z_i q \lambda(\vec{r})$, na expansão da exponencial, iguala-se a zero sob a condição de neutralidade da solução. Podemos escrever a equação 3.8 usando a constante de Debye(k_D) que descreve o decaimento exponencial do potencial no solvente:

$$\nabla \cdot \epsilon(\vec{r}) \nabla \psi(\vec{r}) = 4\pi \rho^f(\vec{r}) + \epsilon k_D^2 \psi(\vec{r}) \lambda \quad (3.9)$$

onde

$$k_D^2 = 8\pi \frac{\sum_i c_i^\infty z_i^2 q^2}{2\epsilon kT} = \frac{1}{l_D^2} \quad (3.10)$$



l_D é o conhecido comprimento de Debye e ϵ é a constante dielétrica na região da atmosfera iônica, ou seja, a constante dielétrica do solvente.

3.3 Solução numérica da equação de PB e a energia de solvatação via campo de reação

Para sistemas com geometria simples, a equação de PB possui solução analítica. No caso de planos, cilindros ou esferas uniformemente carregados, a equação de PB depende somente de uma variável e, em alguns casos, a solução exata pode ser obtida (ver apêndice A para o caso esférico). Como já mencionado na introdução deste capítulo, o programa MEAD utiliza o método numérico das diferenças finitas (ver dedução no apêndice B) para resolver a equação de PB para formas arbitrárias e distribuição de cargas complexas, e a equação resultante para os pontos da rede cúbica é

$$\psi_j = \frac{\sum_i^6 \epsilon_i \psi_i + \frac{4\pi q_j}{h}}{\sum_i^6 \epsilon_i + \epsilon_j k_D^2 \lambda_j h^2} \quad (3.11)$$

onde as cargas moleculares e os dielétricos são discretizados na rede cúbica, e a equação de PB é integrada e atualizada nessa rede (ver figura 3.1).

Os algoritmos para resolver a equação de PB são computacionalmente exigentes e algumas técnicas têm sido utilizadas para melhorar o desempenho do algoritmo, especialmente o uso de técnicas de "multi-grades" afim de encontrar

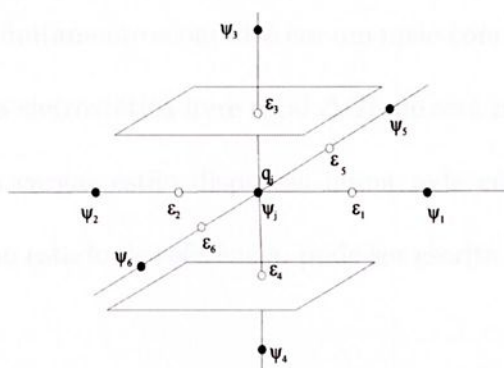


Figura 3.1: Ilustração da discretização do espaço por uma rede cúbica centrada no ponto j da grade. O potencial está localizado nos círculos sólidos e o dielétrico colocado nos círculos abertos

as soluções mais precisas e mais rapidamente[44, 45]. Neste trabalho, o programa MEAD executa os cálculos utilizando a técnica da focalização eletrostática[46]. O primeiro passo na focalização eletrostática é calcular a solução com baixa precisão usando um espaçamento grosseiro entre as grades e o potencial igual a zero na fronteira, em seguida, esta solução é então utilizada para definir as condições de fronteiras para um cálculo muito mais preciso em uma discretização mais "fina" do sistema. O espaçamento da grade adotado inicialmente foi de $1\text{\AA}$ e, para uma melhor discretização, $0.5\text{\AA}$ em seguida. O tamanho da rede cúbica é de 43 grades por Ângstron, nos dois passos mencionados acima. O dímero possui, aproximadamente, 10 Ângstrons de comprimento(distância ponta à ponta).

Abaixo encontraremos uma breve discussão do cálculo da energia eletrostática livre obtida através da solução da equação de PB pelo método das diferenças finitas para um sistema molecular. O estado de referência é o estado no qual a molécula, do ponto de vista das ligações químicas, está montada, porém está completamente descarregada, ou seja, pode-se considerar que as cargas parciais de

seus átomos estão infinitamente separados em um meio com a constante dielétrica molecular. A energia eletrostática livre total ΔG (que será mais adiante denotada por ΔG^{grid} , pois as cargas estão dispostas numa rede cúbica) de um sistema molecular, relativo ao estado de referência, pode ser escrita como a soma de duas contribuições:

$$\Delta G = \Delta G^C + \Delta G^{reac} \quad (3.12)$$

A energia coulombiana ΔG^C para reunir os átomos do soluto pode ser escrita como:

$$\Delta G^C = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^N q_i \psi_i^C \quad (3.13)$$

onde a soma é sobre todas as cargas q_i do soluto multiplicada pelo potencial eletrostático ψ_i^C na carga i causado por todos os outros átomos carregados j . Em um meio dielétrico uniforme, o potencial eletrostático ψ_i^C é calculado através da lei de Coulomb:

$$\psi_i^C = 332 \sum_{j \neq i}^N \frac{q_j}{\epsilon_j r_{ij}} \quad (3.14)$$

onde r_{ij} é a distância da carga i a carga j .

A energia do campo de reação, ΔG^{reac} , é a soma sobre todas as cargas atômicas q_i multiplicada pelo potencial eletrostático ψ^{reac} na carga i produzido pelo solvente e pelos íons móveis:

$$\Delta G^{reac} = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^N q_i \psi_i^{reac} \quad (3.15)$$

Dois cálculos serão executados pelo programa MEAD para encontrar a contribuição ΔG^{reac} para a energia eletrostática livre total. Se a molécula encontra-se em meio solvente, ou seja, se existe uma fronteira dielétrica, a energia ΔG_1^{grid} do sistema pode ser decomposta como segue:

$$\Delta G_1^{grid} = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^N q_i (\psi_i^s + \psi_i^{C(FD)} + \psi_i^{reac}) = \Delta G^s + \Delta G^{C(FD)} + \Delta G^{reac} \quad (3.16)$$

O segundo cálculo é feito com a molécula em um meio dielétrico uniforme, isto é, não existe fronteira dielétrica. Para esta situação a energia do sistema ΔG_2^{grid} pode ser escrita como:

$$\Delta G_2^{grid} = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^N q_i (\psi_i^s + \psi_i^{C(FD)}) = \Delta G^s + \Delta G^{C(FD)} \quad (3.17)$$

Nestas expressões, $\psi_i^{C(FD)}$ é o potencial de Coulomb na posição da carga i devido a todas as outras cargas do soluto obtido pelo método das diferenças finitas, ψ_i^{reac} é o potencial de reação gerado pela diferença dos meios dielétricos na carga i , e ψ_i^s é o potencial produzido pela carga em um meio infinito com a constante dielétrica molecular, e o valor deste potencial tenderá ao infinito quando o espaçamento da rede tender a zero de modo análogo à "auto-energia infinita" de uma carga pontual. Esta quantidade, que corresponderia ao "auto-potencial", será sempre a mesma em qualquer processo de transferência da molécula de um meio para outro

e será cancelada nos cálculos abaixo. As energias ΔG^s , $\Delta G^{C(FD)}$ e ΔG^{reac} correspondem aos potenciais ψ_i^s , $\psi_i^{C(FD)}$ e ψ_i^{reac} , respectivamente. A energia devido ao campo de reação será dada por

$$\Delta G^{reac} = \Delta G_1^{grid} - \Delta G_2^{grid} \quad (3.18)$$

Este processo pode ser melhor compreendido através do ciclo termodinâmico mostrado na figura 3.2, que combina vários processos hipotéticos em um ciclo e a energia livre teórica para processos reais pode dessa forma ser calculada. Queremos calcular o valor de $\Delta G_{1 \rightarrow 2}$, e através do ciclo termodinâmico abaixo temos

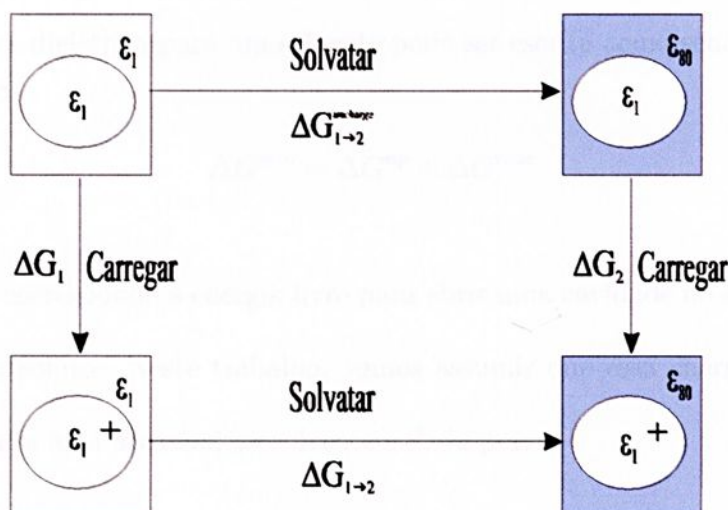


Figura 3.2: Ciclo termodinâmico hipotético.

$$\Delta G_{1 \rightarrow 2} + \Delta G_1 = \Delta G_2 + \Delta G_{1 \rightarrow 2}^{uncharge}$$

então

$$\begin{aligned}\Delta G_{1\rightarrow 2} &= \Delta G_2 + \Delta G_{1\rightarrow 2}^{uncharge} - \Delta G_1 = \\ &= G_2^{charge} - G_2^{uncharge} + G_2^{uncharge} - G_1^{uncharge} - G_1^{charge} + G_1^{uncharge}\end{aligned}$$

portanto

$$\Delta G_{1\rightarrow 2} = G_2^{charge} - G_1^{charge}$$

onde G_1^{charge} e G_2^{charge} são definidas pelas equações 3.16 e 3.17 respectivamente.

Como se pode notar, $\Delta G_{1\rightarrow 2}$ (nosso ΔG^{reac}) é a diferença na energia livre eletrostática do soluto nas duas fases. Para se obter valores da energia de solvatação, ambas contribuições, eletrostáticas (ΔG^{reac}) e não polares (ΔG^{np}), devem ser consideradas. A energia livre total de transferência de um soluto de um meio sem fronteira dielétrica para um solvente pode ser escrita como sendo [25]:

$$\Delta G^{solv} = \Delta G^{np} + \Delta G^{reac} \quad (3.19)$$

onde ΔG^{np} corresponde a energia livre para abrir uma cavidade no solvente para acomodar o soluto. Neste trabalho, vamos assumir que essa energia, ΔG^{np} , é proporcional a área acessível ao solvente e dada por:

$$\Delta G^{np} = \gamma \cdot A \quad (3.20)$$

onde A representa a área acessível ao solvente e γ é uma constante de tensão superficial. A energia livre do sistema (não a energia de transferência discutida



acima) no solvente pode ser escrita, em primeira aproximação, como

$$\Delta G_{total} = U(\{q_{int}\}) + \Delta G^{mp} + \Delta G^{reac} \quad (3.21)$$

onde o termo $U(\{q_{int}\})$ corresponde a equação 2.28 para a energia interna.

Para o cálculo da energia de cavitação, usamos $\gamma = 0.072 \text{ kcal.mol}^{-1} \text{ \AA}^{-2}$, que é o valor da tensão superficial para água-hidrocarbonetos.

3.4 Energia de solvatação usando o modelo WSAS

Uma forma alternativa para o cálculo da energia de solvatação para proteínas e moléculas orgânicas foi proposta recentemente por Kollman e colaboradores[6]. Conhecendo experimentalmente a energia de solvatação para uma coleção de moléculas orgânicas, eles propuseram o cálculo da solvatação como uma ponderação por átomo da área acessível ao solvente (WSAS-weighted solvent accessible surface area). De maneira simplificada, os autores reuniram um conjunto de tipos de átomos presentes nas moléculas conhecidas, e ajustaram os valores dos pesos γ_i 's, um termo de tensão superficial por átomo, para cada tipo, de forma que a energia de solvatação fosse obtida da expressão

$$\Delta G^{solv} = \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^{n_i} \gamma_i A_j \quad (3.22)$$

onde m é o número de tipos de átomos, n_i é o número de átomos do tipo i e A_j é a área de cada j -ésimo átomo do tipo i .



O ajuste dos valores de γ_i foram realizados com bases diferentes de moléculas e os valores que adotaremos são aqueles contidos numa amostra com 405 moléculas, sendo 14 íons. O desvio padrão com os ajustes obtidos compara-se bem com outras moléculas. Nesse sentido, a simplicidade do modelo recomenda a sua utilização.

Os tipos de átomos de interesse neste trabalho estão listados na tabela 3.1 juntamente com os valores de γ da referência citada.

Tabela 3.1: Valores do coeficiente de tensão superficial γ (em $kcal.mol^{-1} \text{ \AA}^{-2}$) para cada tipo de átomo.

tipo de átomo	γ (em $kcal.mol^{-1} \text{ \AA}^{-2}$)
OH	-0.151777
O5 e O1	0.117605
OH6	-0.142103
O6	-0.6756
C1 a C5	-0.444976
C6	-0.117831
H	0.006212

Os hidrogênios dos grupos hidroxílas foram tratados como átomos unidos ao oxigênio, através de uma reparametrização destes, em função da aproximação de resíduo rígido. Em função disso, utilizamos o parâmetro γ para esse tipo de oxigênio que é uma média do valor sugerido pelos autores para o hidrogênio e o

oxigênio quando numa hidroxila. Da mesma forma, como distribuímos a carga do grupo carboxila desprotonado entre os dois oxigênios, usamos o γ como sendo a média para O^- do íon acetato e o oxigênio do grupo carbonila.

A energia livre total será dada, então, por

$$\Delta G_{total} = U(\{q_{int}\}) + \Delta G^{solv} \quad (3.23)$$

4.1 Energia interna



Figura 4.1: Molécula de ácido acético (CH_3COOH) com os átomos de oxigênio rotulados como O_1 e O_2 . Os átomos de oxigênio são os únicos que possuem carga parcial negativa no modelo WSAS.

A carga parcial q_i de cada átomo i é dada por:

Capítulo 4

Resultados

4.1 Energia interna

Um dímero de $\alpha - D - galactose$ com a ligação glicosídica do tipo 1-4 está ilustrado na figura 4.1 com $\phi = 0^0$ e $\psi = 0^0$.

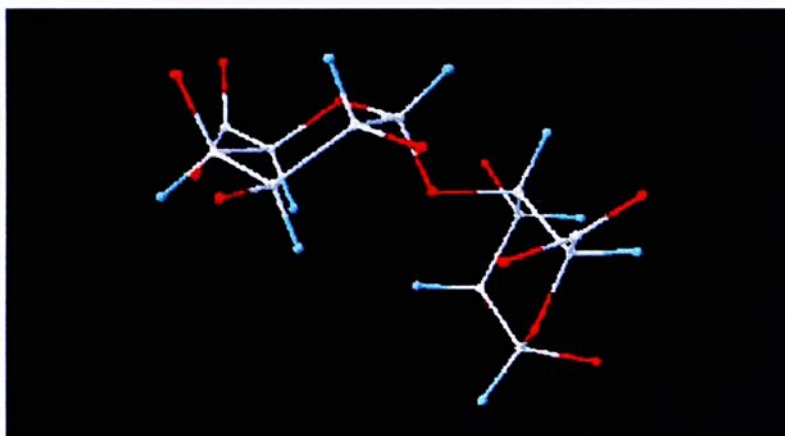


Figura 4.1: Um dímero de $\alpha - D - galactose$ com $\phi = 0^0$ e $\psi = 0^0$. Os átomos em cor verde, vermelho e branco representam os átomos de hidrogênio, oxigênio e carbono, respectivamente.

A designação $\alpha - D$ significa que o grupo hidroxila OH ligada ao carbono C_1

está do lado oposto do anel do açúcar a partir do substituinte ligado ao carbono C_5 , e a configuração do carbono C_5 é a mesma que a do carbono assimétrico do *D*-gliceraldeído justificando assim a nomenclatura deste açúcar. Os resíduos $GalA^-$ e $GalAH$ possuem geometria e cargas parciais obtidas através de cálculos quânticos semi-empíricos feitos com o pacote MOPAC(versão 5.0)[47]. O resíduo carregado tem geometria diferente do não carregado como uma consequência da distribuição de cargas diferente das duas moléculas[47]. A figura 4.2 mostra os mapas conformacionais para as quatro possíveis sequências diméricas[(a) : $GalAH - GalAH$, (b) : $GalAH - GalA^-$, (c) : $GalA^- - GalAH$, (d) : $GalA^- - GalA^-$]. A função energia potencial está representada pela equação 2.28 e, como já mencionado, os grupos OH foram tratados como sendo um único átomo com o raio de Van der Waals do átomo de oxigênio.

Duas regiões de mais baixa energia ($V < 1 kcal.mol^{-1}$ acima do mínimo) são observadas nos quatro mapas. Os contornos mais externos são governados pela termo repulsivo do potencial de Lennard-Jones daí a semelhança dos mapas. No mapa 4.2.a, a configuração de mais baixa energia encontra-se em torno de (20, 30), entretanto os pares ϕ e ψ de ambas regiões têm chance igualmente provável de aparecer em uma cadeia composta de segmentos de $GalAH - GalAH$. O surgimento das duas regiões de mínima energia deve-se às interações coulombianas que conferem ao dímero descarregado uma liberdade conformacional levemente maior em relação aos dímeros $GalAH - GalA^-$ e $GalA^- - GalA^-$, pois observa-se que a área que delimita as duas regiões de menor energia, no caso $GalAH - GalAH$,

contém um número maior de estados.

O mapa conformacional mostrado na figura 4.2.b revela uma liberdade conformacional mais limitada.

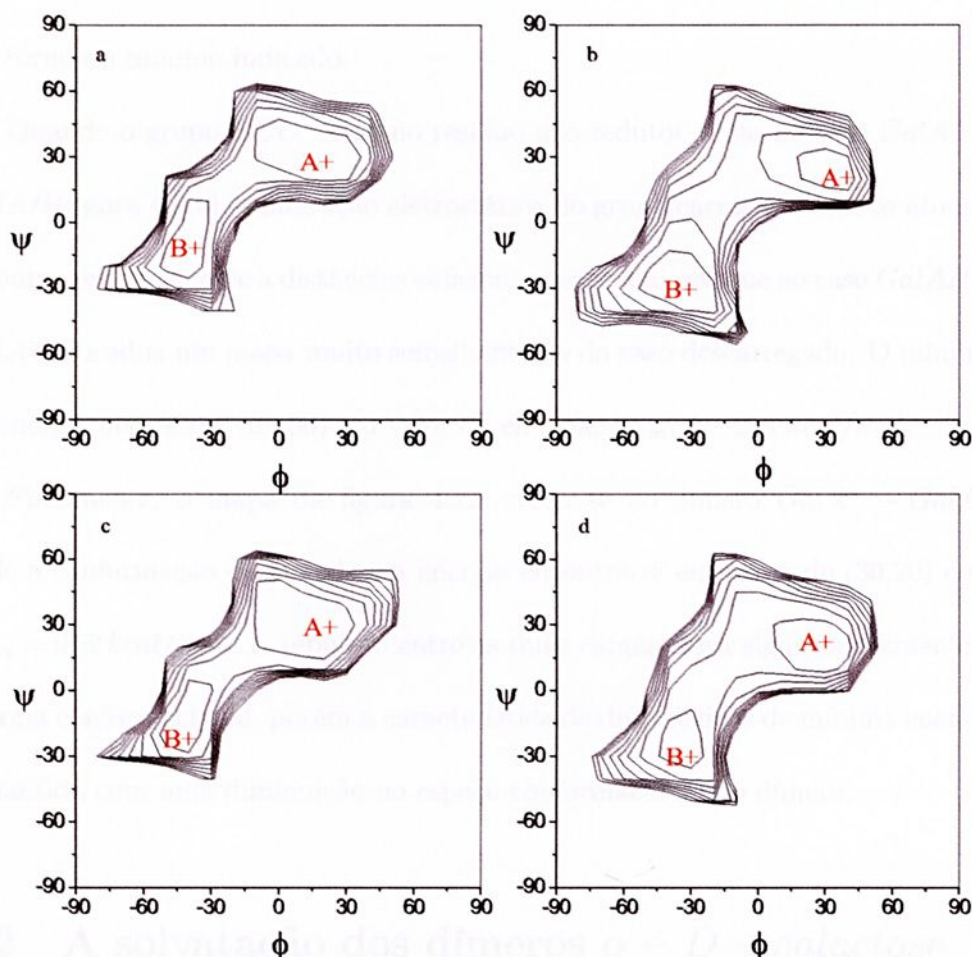


Figura 4.2: Mapa da energia conformacional. $A+$ localiza o primeiro mínimo e $B+$ o segundo (a) $GalAH - GalAH$ com $V_A = -2.16$ em $(\phi, \psi) = (20, 30)$ e $(V_B = -1.9$ em $(\phi, \psi) = (-40, -10)$; (b) $GalAH - GalA^-$ com $V_A = -12.8$ em $(\phi, \psi) = (40, 20)$ e $V_B = -12.7$ em $(\phi, \psi) = (-30, -30)$; (c) $GalA^- - GalAH$ com $V_A = -2.9$ em $(\phi, \psi) = (20, 30)$ e $V_B = -2.86$ em $(\phi, \psi) = (-40, -20)$; (d) $GalA^- - GalA^-$ com $V_A = 0.6$ em $(\phi, \psi) = (30, 20)$ e $V_B = 0.97$ em $(\phi, \psi) = (-30, -30)$. A energia está em $kcal.mol^{-1}$, os mapas apresentam contornos de 1 $kcal.mol^{-1}$ acima do mínimo até 8 $kcal.mol^{-1}$.

Isto se deve a presença do grupo COO^- do resíduo redutor próximo ao resíduo

não-redutor favorecendo a interação eletrostática. Há portanto, uma diminuição significativa da energia conformacional ($V_{min} = -12,8 \text{ kcal/mol}$), e o mínimo de energia está em (40,20). E, em contra partida, as conformações estão restritas a um número inferior de pares ϕ e ψ , em relação ao caso totalmente descarregado, em torno do mínimo indicado.

Quando o grupo COO^- está no resíduo não-redutor como no caso $GalA^- - GalAH$ (figura 4.2.c), a interação eletrostática do grupo carregado com os átomos do outro resíduo ocorre a distâncias suficientemente maiores que no caso $GalAH - GalA^-$ e produz um mapa muito semelhante ao do caso descarregado. O mínimo da energia ocorre em (20,30) e o valor da energia, V_{min} , é $-2,9 \text{ kcal/mol}$.

Finalmente, o mapa da figura 4.2.d refere-se ao dímero $GalA^- - GalA^-$ onde a conformação de mais baixa energia encontra-se em torno de (30,20) com $V_{min} = 0,6 \text{ kcal/mol}$. A repulsão entre as duas cargas eleva significativamente a energia conformacional, porém a característica de duas regiões de mínima energia é mantida com uma diminuição no espaço conformacional do dímero.

4.2 A solvatação dos dímeros $\alpha - D - galactose$

Os cálculos referentes a energia de solvatação foram efetuados através da equação 3.19 com os valores 2 e 80 para as constantes dielétricas da molécula e do solvente, respectivamente. Para as mesmas conformações nos mapas da figura 4.2, referentes a energia interna, obtivemos a energia de solvatação, ou de outra



maneira, a energia de transferência da molécula de um meio onde não existe uma fronteira dielétrica para um meio com solvente.

Tentamos verificar se o mapa da energia de solvatação também apresenta as mesmas características que os mapas da energia interna, ou seja, se as regiões de baixa energia seriam muito parecidas com os respectivos mapas da figura 4.2. Os resultados da energia de solvatação (energia de cavitação mais a energia proveniente do campo de reação, onde o termo de cavidade foi calculado usando $\gamma = 0.072 \text{ kcal.mol}^{-1}\text{\AA}^{-2}$) para as quatro combinações de dímeros [(a) : $\text{GalAH} - \text{GalAH}$, (b) : $\text{GalAH} - \text{GalA}^-$, (c) : $\text{GalA}^- - \text{GalAH}$, (d) : $\text{GalA}^- - \text{GalA}^-$], estão ilustrados nos mapas da figura 4.3.

Os mapas da figura 4.3 têm todos em comum que a região $0 < \phi < 180^\circ$ e $0 < \psi < -180^\circ$ é proibida, ou seja, tem energia maior de 10 kcal.mol^{-1} acima do mínimo. Isto também ocorre nos mapas da figura 4.2. Outra característica é que, com exceção do mapa em 4.3.d, a região central dos mapas (menos aquela parte do quarto quadrante, como observado acima) possui energia menor que 10 kcal.mol^{-1} acima do mínimo. Os mínimos principais de energia ocorrem em $(\phi, \psi) = (-70, -50)$ e $S_{\min} = -70,2 \text{ kcal.mol}^{-1}$, $(\phi, \psi) = (10, 80)$ e $S_{\min} = -127,8 \text{ kcal.mol}^{-1}$, $(\phi, \psi) = (-30, -170)$ e $S_{\min} = -127,2 \text{ kcal.mol}^{-1}$ e $(\phi, \psi) = (-40, -160)$ e $S_{\min} = -240,9 \text{ kcal.mol}^{-1}$, respectivamente para os mapas das figuras 4.3.a,b,c e d.

Comparando com os mapas da figura 4.2, constata-se que esses mínimos são externos aos contornos da energia acima de 8 kcal.mol^{-1} acima do mínimo daque-



les mapas. Mas, nos mapas das figuras 4.2 os contornos externos são definidos pelos conflitos estéricos, ou, mais especificamente, pelo termo repulsivo($1/r^{12}$) da expressão de Lennard-Jones. Esse termo produz barreiras energéticas praticamente intransponíveis, pois é uma manifestação do princípio de exclusão de Pauli.

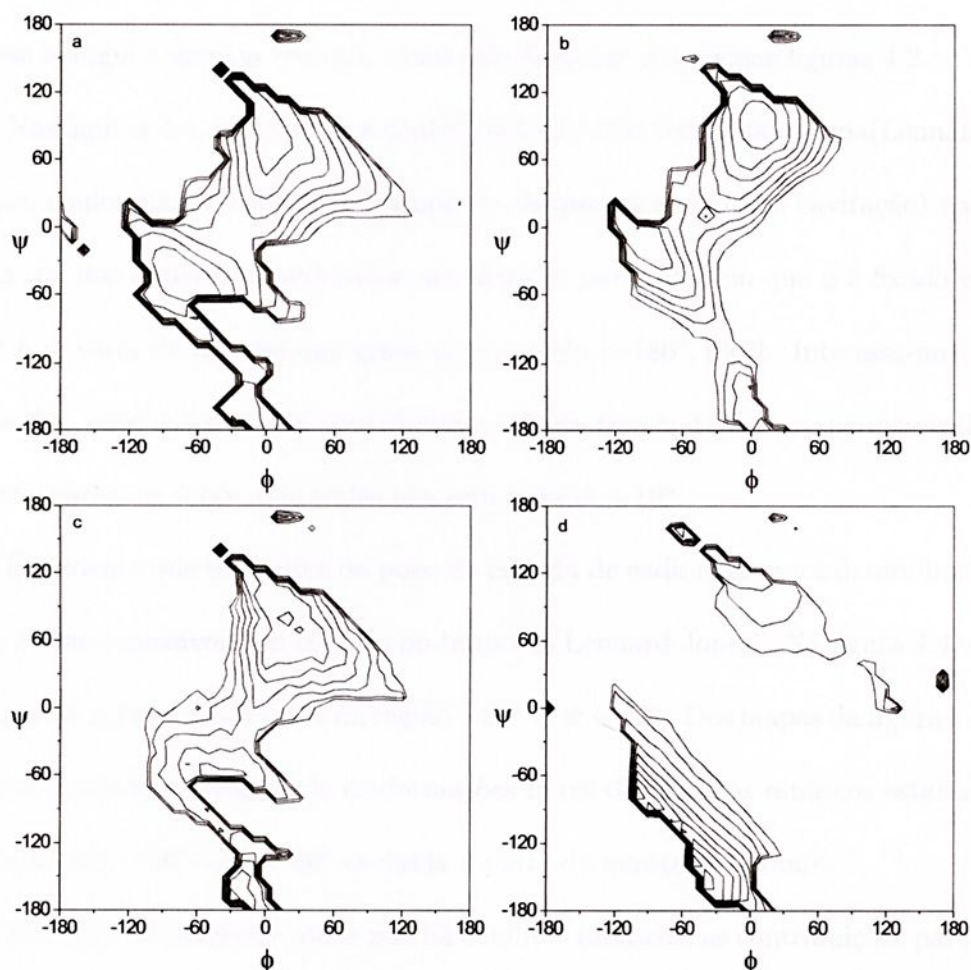


Figura 4.3: Mapas da energia da solvatação. (a) $GalAH - GalAH$ ($S_{min} = -70.2$ e $(\phi, \psi) = (-70, -50)$); (b) $GalAH - GalA^-$ ($S_{min} = -127.8$ e $(\phi, \psi) = (10, 80)$); (c) $GalA^- - GalAH$ ($S_{min} = -127.2$ e $(\phi, \psi) = (-30, -170)$); (d) $GalA^- - GalA^-$ ($S_{min} = -240.9$ e $(\phi, \psi) = (-40, -160)$). A energia está em kcal/mol, e os mapas apresentam contornos de 1 kcal/mol.

Isto significa que, a despeito dos valores absolutos das energias de solvatação, é o termo repulsivo que determina os contornos externos do mapa.

Devemos lembrar que a energia de solvatação, mostrada nas figuras 4.3, corresponde à energia de interação eletrostática do soluto com a polarização que ele induz no solvente, através do campo de reação e a energia para abrir uma cavidade para "abrigar" o soluto. Se desejamos obter a energia total devemos acrescentar a essa energia a energia interna, como calculada nos mapas das figuras 4.2.

Nas figuras 4.4, mostramos a contribuição de cada termo da energia (Lennard-Jones, coulombiano, energia de campo de reação e a energia de cavitação) para cada um dos dímeros considerados, na situação particular em que ϕ é fixado em -40° e ψ varia de dez em dez graus no intervalo $[-180^\circ, 180^\circ]$. Interessa-nos as variações relativas de cada contribuição. Dessa forma, todas as energias estão normalizadas de modo que todas são zero para $\psi = 10^\circ$.

É evidente que os limites do poço de energia de cada mapa será determinado pelo termo repulsivo (aqui contido no termo de Lennard-Jones). Na figura 4.4, os valores de ψ permitidos estão na região $-60^\circ < \psi < 30^\circ$. Dos mapas da figura 4.2, depreende-se que a região de conformações livres de conflitos estéricos estariam no quadrado $-60^\circ < \psi < 60^\circ$ excluída a parte do quarto quadrante.

Na região de interesse, onde não há conflitos estéricos, as contribuições para a energia coulombiana apresentam o mesmo padrão para os diversos dímeros, qual seja, valores negativos a esquerda de $\psi = 10^\circ$ e positivos a direita. Para o dímero *GalAH* - *GalA*⁻ os valores da energia coulombiana são mais negativos que para



os demais dímeros.

O comportamento apresentado pela energia do campo de reação é qualitativamente simétrico à energia coulombiana, com exceção do dímero $GalA^- - GalAH$.

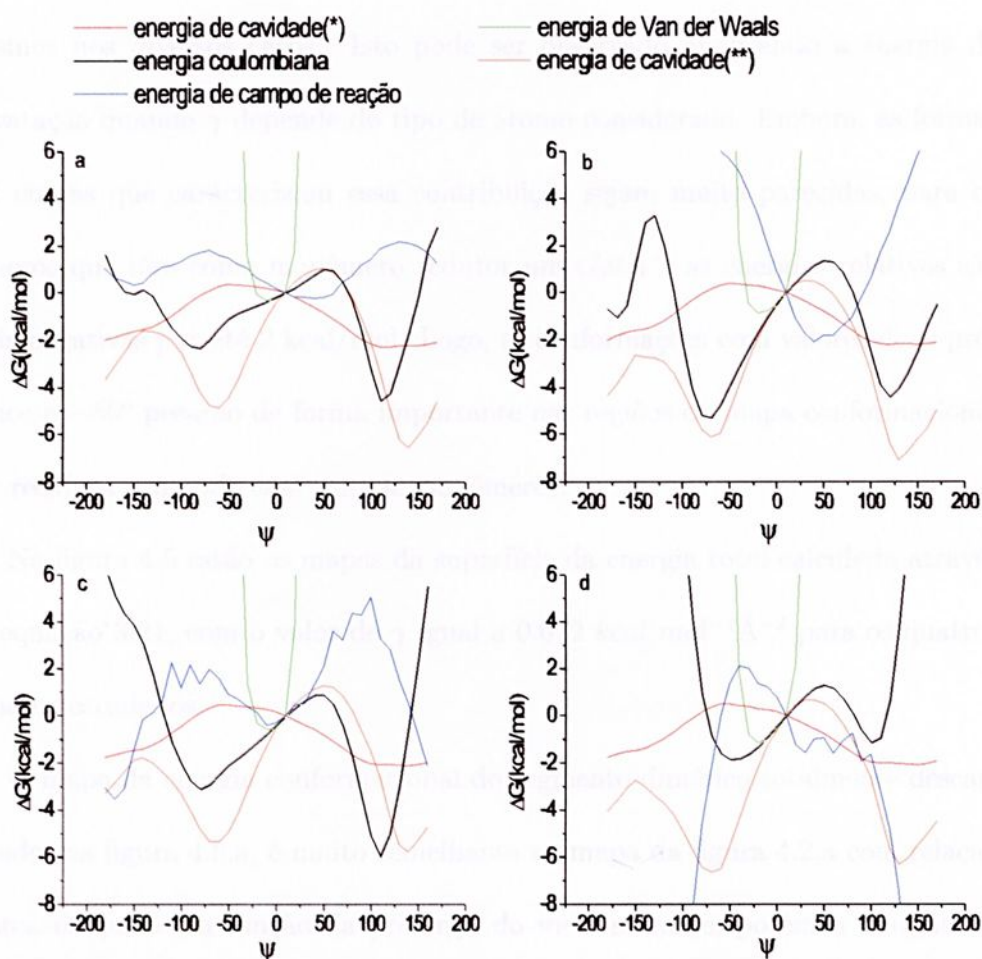


Figura 4.4: A contribuição das energias de cavidade, van der Waals, coulombiana e do campo de reação para a secção transversal com ϕ fixado em -40° e ψ variando de -180° a 180° para os quatros dímeros: (a) $GalAH - GalAH$, (b) $GalAH - GalA^-$, (c) $GalA^- - GalAH$, (d) $GalA^- - GalA^-$. (*) para $\gamma = 0,072 \text{ kcal mol}^{-1} \text{ \AA}^{-2}$ e (**) para os valores de γ listados na tabela 3.1.

A contribuição à energia de solvatação, quando utilizamos $\gamma = 0.072 \text{ kcal.mol}^{-1} \text{ \AA}^{-2}$ para toda a molécula, revela um comportamento bem uniforme na região de

interesse. Podemos inferir do comportamento dos termos de van der Waals e de solvatação que as características geométricas de $GalAH$ e $GalA^-$ não diferem substancialmente.

A exposição dos grupos mais ou menos hidrofóbicos, entretanto, não são os mesmos nos diversos casos. Isto pode ser observado analisando a energia de solvatação quando γ depende do tipo de átomo considerado. Embora, as formas das curvas que caracterizam essa contribuição sejam muito parecidas, para os dímeros que têm como monômero redutor um $GalA^-$, as energias relativas são mais negativas por até 2 kcal/mol. Logo, as conformações com valores de ψ próximos a -50° pesarão de forma importante nas regiões do mapa conformacional dos resíduos contendo esse tipo de monômeros.

Na figura 4.5 estão os mapas da superfície da energia total calculada através da equação 3.21, com o valor de γ igual a $0.072 \text{ kcal mol}^{-1} \text{ \AA}^{-2}$ para os quatros dímeros estudados.

O mapa da energia conformacional do segmento dimérico totalmente descarregado, na figura 4.5.a, é muito semelhante ao mapa da figura 4.2.a com relação a área ocupada em função da presença do meio solvente, porém o mínimo da energia, que em um meio homogêneo estava perto de (20,30), em meio solvente desloca-se para a região próximo a (-40,10). Ambas regiões têm energia menor que 1 kcal.mol^{-1} e possuem aproximadamente o mesmo número de estados (áreas das superfícies de energia). Do ponto de vista estatístico, elas são muito semelhantes.

O mapa na figura 4.5.b referente a $GalAH - GalA^-$ revela que a presença

de um grupo carregado nessa molécula em meio solvente restringirá significativamente sua liberdade conformacional.

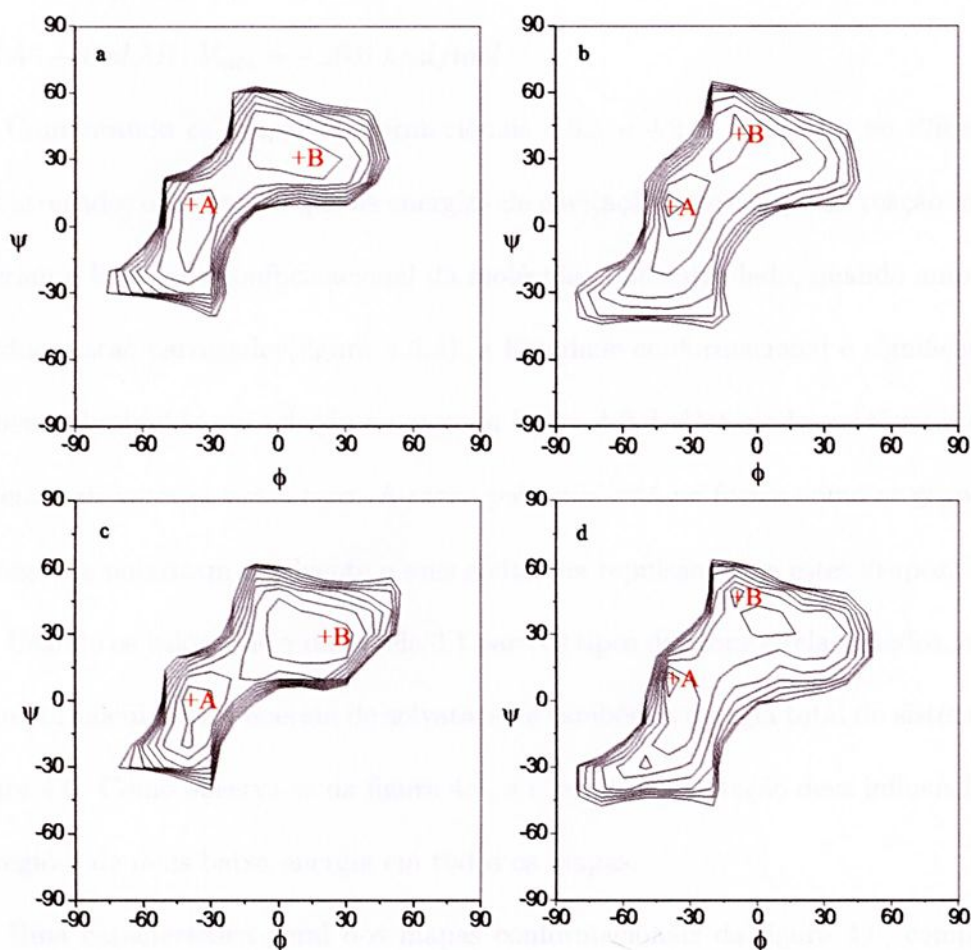


Figura 4.5: Mapa da energia total. $A+$ localiza o primeiro mínimo e $B+$ o segundo (a) $GalAH - GalAH$ com $V_A = -27.3$ em $(\phi, \psi) = (-40, 10)$ e $(V_B = -27.9$ em $(\phi, \psi) = (10, 30)$; (b) $GalAH - GalA^-$ com $V_A = -36.8$ em $(\phi, \psi) = (-40, 10)$ e $V_B = -35.0$ em $(\phi, \psi) = (-10, 40)$; (c) $GalA^- - GalAH$ com $V_A = -26.2$ em $(\phi, \psi) = (-40, 0)$ e $V_B = -26.1$ em $(\phi, \psi) = (20, 30)$; (d) $GalA^- - GalA^-$ com $V_A = -106.6$ em $(\phi, \psi) = (-40, 10)$ e $V_B = -104.9$ em $(\phi, \psi) = (-10, 50)$. A energia está em $1kcal.mol^{-1}$, os mapas apresentam contornos de $1kcal.mol^{-1}$ acima do mínimo até $8 kcal.mol^{-1}$.

Podemos conjecturar que as distâncias entre as cargas polarizadas no solvente em torno do grupo carregado e os átomos do resíduo não-redutor são

menores quando comparamos com caso $GalA^- - GalAH$ (figura 4.5.c), o que deve favorecer ainda mais a interação eletrostática. Os dados numéricos confirmam essa suposição, pois, para $GalAH - GalA^-$, $V_{min} = -36.8 \text{ kcal/mol}$ e para $GalA^- - GalAH$, $V_{min} = -26.6 \text{ kcal/mol}$.

Comparando os mapas conformacionais 4.5.a e 4.2.a, referentes ao dímero descarregado, observamos que as energias de cavitação e de campo de reação não alteram a liberdade conformacional da molécula. Por outro lado, quando ambos resíduos estão carregados (figura 4.5.d), a liberdade conformacional é significativamente diminuída em relação ao caso da figura 4.2.d. Daí, pode-se inferir uma cadeia mais extensa nesse caso. A razão para isso está na forma como os grupos carregados polarizam o solvente e seus efeitos na repulsão entre estes grupos.

Usando os valores de γ da tabela 3.1 para os tipos de átomos relacionados, novamente calculamos a energia de solvatação e também a energia total do sistema, figura 4.6. Como observa-se da figura 4.4, a energia de cavitação deve influenciar as regiões de mais baixa energia em todos os mapas.

Uma característica geral dos mapas conformacionais da figura 4.6, comparando àqueles das figuras 4.2, é que os poços de energia são mais estreitos e, em dois casos, mais profundos. Por exemplo, na figura 4.6.a, a segunda região de menor energia é bem mais limitada do que a primeira, diferentemente do que ocorre no mapa da figura 4.2.a. Isso pressupõe uma diminuição da liberdade conformacional do dímero neutro em meio solvente.

Quando o monômero redutor está carregado, verifica-se no mapa b da figura



4.6 que os dois mínimos são deslocados para regiões mais distantes do centro.

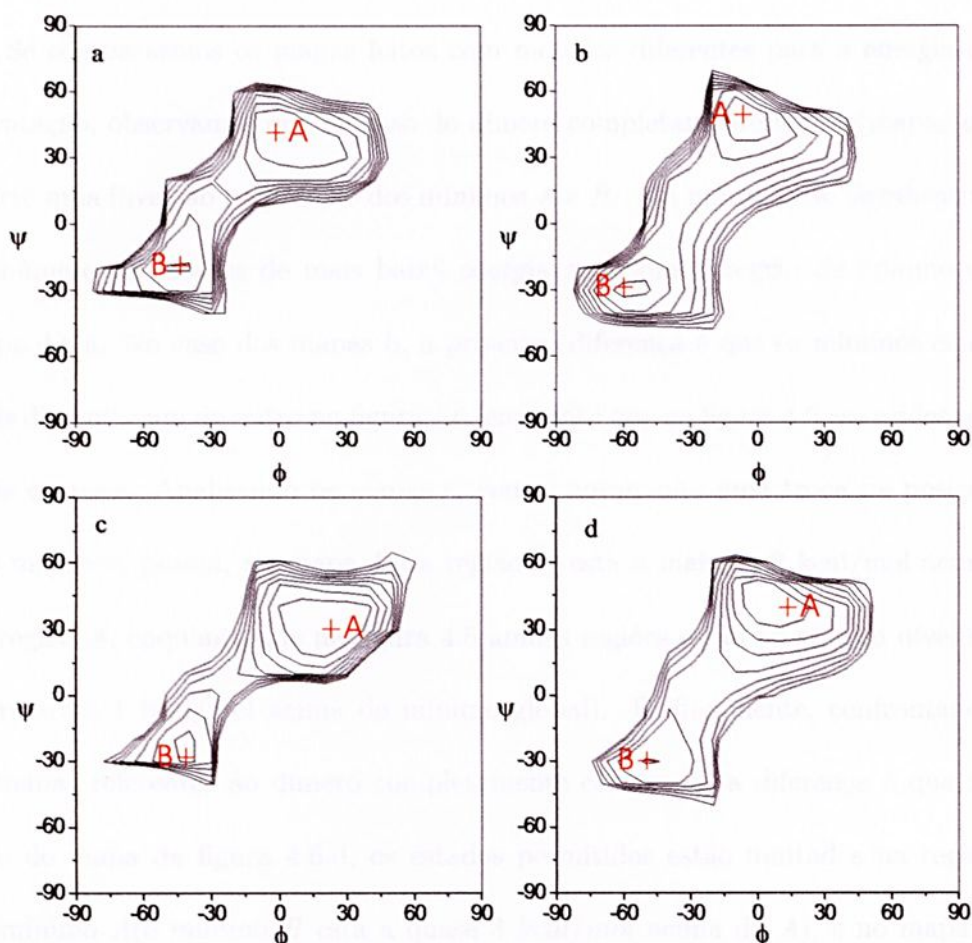


Figura 4.6: Mapas da energia total com γ dependendo do tipo de átomo. $A+$ localiza o primeiro mínimo e $B+$ o segundo (a) $GalAH - GalAH$ com $V_A = -40.5$ em $(\phi, \psi) = (0, 40)$ e $V_B = -39.5$ em $(\phi, \psi) = (-40, -20)$; (b) $GalAH - GalA^-$ com $V_A = -89.3$ em $(\phi, \psi) = (-10, 50)$ e $V_B = -88.8$ em $(\phi, \psi) = (-60, -30)$; (c) $GalA^- - GalAH$ com $V_A = -93.6$ em $(\phi, \psi) = (20, 30)$ e $V_B = -91.1$ em $(\phi, \psi) = (-40, -30)$; (d) $GalA^- - GalA^-$ com $V_A = -127.2$ em $(\phi, \psi) = (10, 40)$ e $V_B = -124.2$ em $(\phi, \psi) = (-50, -30)$. A energia está em $kcal/mol$ e os mapas apresentam contornos de 1 $kcal/mol$ acima do mínimo até 8 $kcal/mol$.

Comparando o mapa c e d com seus correspondentes na figura 4.2, nota-se, além da diminuição da liberdade conformacional, que a segunda região de menor energia está a mais de 2 $kcal/mol$ acima da primeira, com o estado energético

mais baixo próximo a (20,30) quando o monômero não redutor está carregado e, no caso completamente carregado, o mínimo está próximo a (10,40).

Se compararmos os mapas feitos com modelos diferentes para a energia de solvatação, observamos que no caso do dímero completamente neutro (mapas *a*), ocorre uma inversão na posição dos mínimos *A* e *B*, com uma redução significativa no número de estados de mais baixa energia na segunda região de mínimo do mapa 4.6.a. No caso dos mapas *b*, a principal diferença é que os mínimos estão mais distantes um do outro na figura 4.6, enquanto que na figura 4.5 as regiões são mais centrais. Analisando os mapas *c*, vemos novamente uma troca na posição dos mínimos, porém, no mapa 4.6 a região *B* está a mais de 2 kcal/mol acima da região *A*, enquanto que na figura 4.5 ambas regiões estão no mesmo nível de energia (até 1 kcal/mol acima do mínimo global). E, finalmente, confrontando os mapas referentes ao dímero completamente carregado, a diferença é que no caso do mapa da figura 4.6.d, os estados permitidos estão limitados na região do mínimo *A* (o mínimo *B* está a quase 3 kcal/mol acima do *A*), e no mapa *d* da figura 4.5, ambas regiões de mínimo diferem de até 2 kcal/mol e apresentam tendência central.



4.3 Propriedades conformacionais da cadeia de ácido poligalacturônico(PGA)

Todos os mapas conformacionais analisados anteriormente vinculam a energia do dímero à sua geometria espacial, e esta informação será usada na "construção" de cadeias. A utilização dos mapas conformacionais diméricos analisados para a geração da cadeia baseia-se no fato de que o sistema(soluto-solvente) encontra-se sob as condições experimentais θ , onde as interações entre os monômeros mais distantes ao longo da cadeia são compensadas pelas interações cadeia-solvente e solvente-solvente.

Um programa monta a molécula adicionando monômero por monômero. O tipo de cada monômero(carregado ou não carregado) é escolhido aleatoriamente vinculado a um grau de ionização previamente determinado. Os ângulos ϕ e ψ , de cada ligação glicosídica, são escolhidos em função do peso que a sua energia lhes confere. Para cada par (ϕ, ψ) está associada uma energia $V(\phi, \psi)$ e como o intervalo de variação angular de ambos é de -180° a 180° de 10 em 10 graus, existirão, então, 37×37 pares (ϕ, ψ) . A probabilidade de escolher um par (ϕ_i, ψ_i) com energia $V(\phi_i, \psi_i)$ será dada por:

$$p_i = \frac{e^{-\frac{V(\phi_i, \psi_i)}{kT}}}{Z} \quad (4.1)$$

onde

$$Z = \sum_i e^{-\frac{V(\phi_i, \psi_i)}{kT}} \quad (4.2)$$

As probabilidades são calculadas e ordenadas de forma decrescente, isto é, o estado mais provável ocupa o setor entre 0 e p_1 de um segmento unitário, o segundo estado no intervalo entre p_1 e $p_1 + p_2$, e assim sucessivamente, pois a soma de todos os p_i deve ser unitário. O programa gerará um número aleatório



ξ e se $P_k < \xi < P_{k+1}$, então, os valores de (ϕ_{k+1}, ψ_{k+1}) serão escolhidos para crescer a cadeia. As regiões mais internas nos mapas conformacionais são as de mais baixa energia, logo as de mais alta probabilidade. As cadeias conterão um número maior de pares (ϕ_i, ψ_i) que pertençam a essas regiões.

Analisaremos o comprimento de persistência médio e a razão característica da cadeia de PGA, definidos, respectivamente, como[23]

$$\langle P_n \rangle = \langle (\vec{L}_1/L_1) \cdot \sum_{i=1}^n \vec{L}_i \rangle_o \quad (4.3)$$

e

$$C_n = \frac{\langle r^2 \rangle_o}{nL^2} \quad (4.4)$$

onde n é o número de monômeros, $\langle r^2 \rangle_o$ é o valor médio do quadrado da distância ponta à ponta ($\vec{r} = \sum_{i=1}^n \vec{L}_i$, onde L é o comprimento médio da ligação

virtual e $\vec{L}_i$ são os vetores virtuais das ligações glicosídicas), $\langle \dots \rangle_o$ significa que as médias correspondem a situação não perturbada, ou seja, somente os vizinhos imediatos interagem. No caso de cadeias carregadas, isso significa operar com uma quantidade de contra-ions que blindam as interações de longo alcance.

Os valores médios do comprimento de persistência e da razão característica foram calculados para as cadeias geradas com os mapas da energia total usando as duas prescrições para o cálculo da energia de solvatação, e também com os mapas referentes a energia interna, sem a contribuição do termo de solvatação. As diferenças dos valores de C_n e P_n foram analisadas para dois casos extremos; um deles é quando temos somente monômeros carregados na cadeia e outro quando a cadeia é completamente neutra. A figura 4.7 mostra os resultados para o primeiro caso citado.

A cadeia de PGA completamente carregada é um polissacarídeo mais estendido e rígido se considerarmos os cálculos realizados com o modelo de solvatação WSAS, como revela a razão característica média e o comprimento de persistência médio relativamente grandes, calculados para vários graus de polimerização. Isto se deve às restrições conformacionais mostradas no mapa d da figura 4.6 relativamente aos outros casos (mapa d das figuras 4.2 e 4.5).

Os resultados para o caso de uma cadeia de PGA completamente neutra estão ilustrados na figura 4.8 para C_n e P_n . No segundo caso, o comprimento de persistência e a razão característica não apresentam valores discrepantes entre as três formas utilizadas para a obtenção da energia total do sistema.



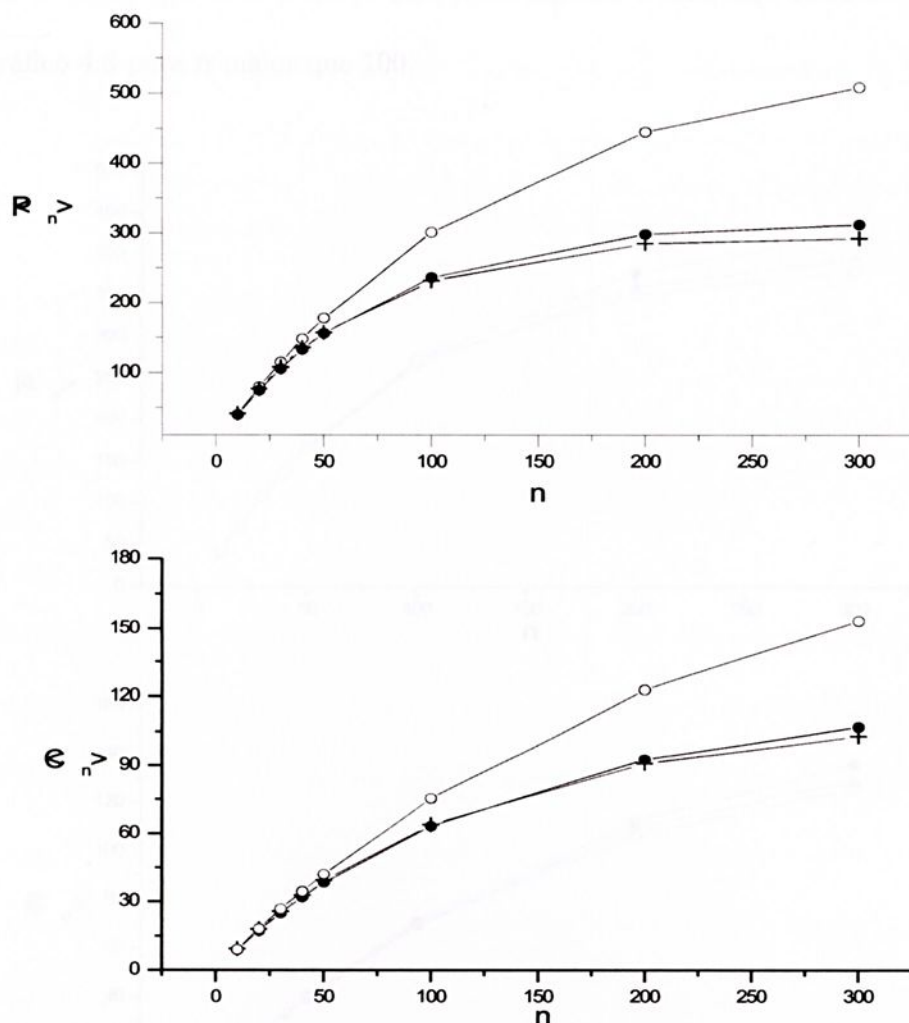


Figura 4.7: Comprimento de persistência $\langle P_n \rangle$ e razão característica $\langle C_n \rangle$ como função do grau de polimerização n . Todos os monômeros da cadeia estão carregados. (●) Energia de cavitação calculada com coeficiente de tensão superficial fixo, (○) com coeficiente de tensão superficial variando de acordo com a tabela 3.1 e (+) sem a contribuição da solvatação.

Como já havíamos notado, as regiões dos mínimos A e B no mapa a da figura 4.2 e 4.5 possuem praticamente o mesmo número de estados, ou seja, as respectivas áreas são muito parecidas no tamanho e a troca da posição do mínimo global é irrelevante, pois são mínimos essencialmente de mesma energia. No entanto, a mesma situação não ocorre no mapa 4.6.a, onde a região do poço

A é bem maior que a do poço B. Isto pode explicar a diferença entre as curvas no gráfico 4.8 para n maior que 100.

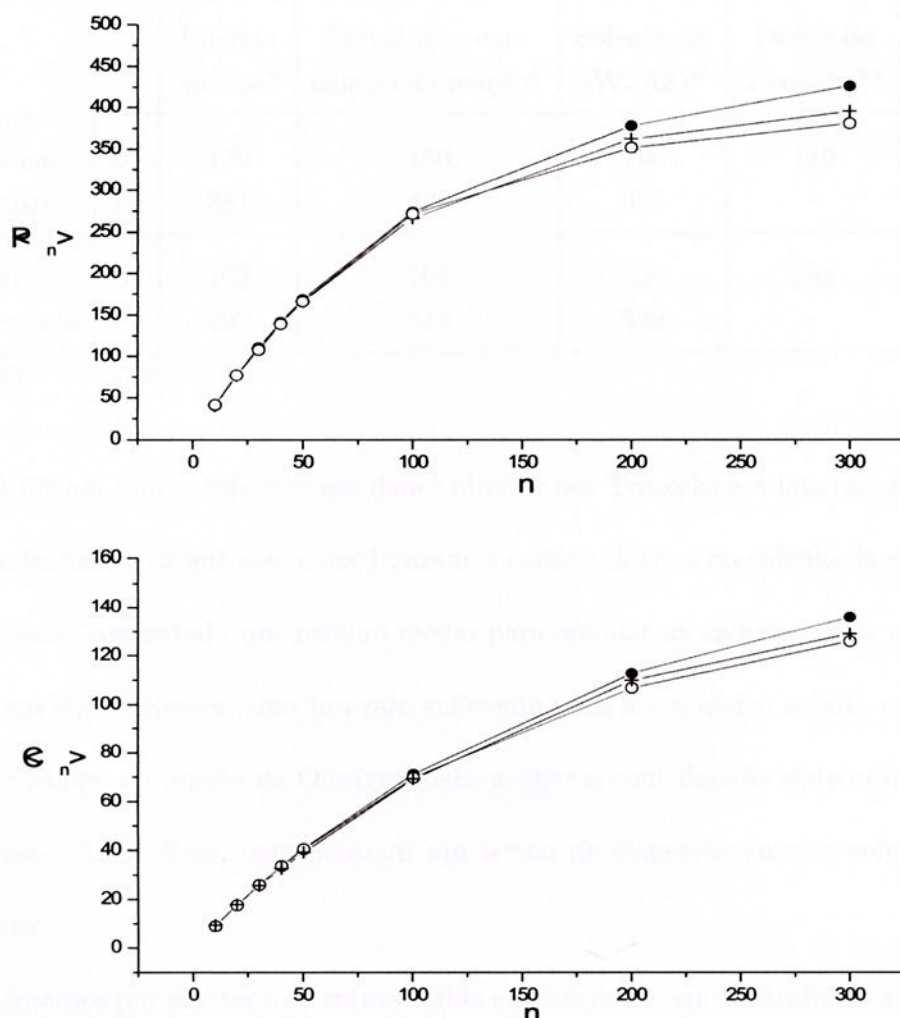


Figura 4.8: Comprimento de persistência $\langle P_n \rangle$ e razão característica $\langle C_n \rangle$ como função do grau de polimerização n . Todos os monômeros da cadeia são não carregados. (●) Energia de cavitação calculada com coeficiente de tensão superficial fixo, (○) com coeficiente de tensão superficial variando de acordo com a tabela 3.1 e (+) sem a contribuição da solvatação.

Na tabela 4.1, estão dispostos o valores encontrados para a razão característica e o comprimento de persistência para as cadeias neutras e totalmente carregadas, considerando os três modelos utilizados para o cálculo da superfície de energia

dos dímeros.

Tabela 4.1: Valores da razão característica C_n e do comprimento de persistência P_n para os modelos usados.

		Energia interna*	Solvatação com campo de reação*	Solvatação (WSAS)*	Dados de Tvaroska**
cadeia neutra	C_n	129	136	126	146
	P_n	381	426	395	–
cadeia carregada	C_n	103	107	154	235
	P_n	292	312	509	–

* $n=300$, ** $n=2000$.

A última coluna refere-se aos dados obtidos por Tvaroska e colaboradores[48]. Nesse trabalho, os autores, consideraram o resíduo flexível no cálculo da energia do dímero, assumindo um resíduo médio para simular as cadeias. Eles usaram uma cavidade esférica, com um raio suficiente para acomodar o soluto, e a teoria de campo de reação de Onsager, para avaliar a contribuição eletrostática do solvente. Além disso, consideraram um termo de dispersão entre o soluto e o solvente.

Optamos por manter a estrutura rígida em função de, em um trabalho anterior [49], ter se verificado que as dimensões da cadeia dependem tanto da topologia do mapa quanto da geometria do monômero. Por fim, a topologia da superfície de energia, considerando somente a energia interna no caso dos monômeros flexíveis, é semelhante àquela do caso rígido. São os contornos externos que se alteram mais significativamente, porém estes são menos relevantes na "construção" das

cadeias.

Usando o modelo WSAS para a solvatação, verificamos que as cadeias carregadas são menos flexíveis que as completamente neutras, o mesmo resultado obtido por Tvaroska e colaboradores como se pode observar da tabela 4.1. Os demais modelos indicam exatamente o contrário a respeito da flexibilidade das cadeias neutras e carregadas em meio solvente.

As superfícies de energia conformacional também foram usadas para avaliar a variação da razão característica média do polímero em função do percentual de grupos $GAlA^-$, ou seja, o grau de ionização. Por problema de disponibilidade, assumimos $n=200$, como grau de polimerização. Os grupos carregados estão aleatoriamente distribuídos na sequência da cadeia. As médias foram efetuadas sobre as 20.000 cadeias geradas para cada caso de percentual de $GalA^-$. Um número maior de cadeias não é necessário visto que os cálculos efetuados para 100.000 cadeias não mudam a distribuição gaussiana dos valores observados, tais como distância ponta a ponta, a menos da altura do valor máximo da gaussiana.

A figura 4.9 mostra os valores de $C_n(x\%)/C_n(0\%)$ em função do percentual de grupos carregados. Esta normalização foi feita devido a extrapolação para C_∞ dos valores experimentais, enquanto os valores teóricos são referentes a $n = 200$.

O dados experimentais obtidos por Plaschina e col.[50], usando espalhamento de luz e uma concentração de sal suporte de 0.1M, para blindar as interações eletrostáticas, mostram que o comportamento de C_∞ decresce até cerca de 60% de grupos carregados e depois volta a crescer. O valor de C_∞ para as cadeias com



100% de $GalA^-$ é menor do que para as cadeias sem carga, o mesmo comportamento obtido nas figuras 4.7 e 4.8 para os cálculos realizados sem solvatação e com a solvatação usando o campo de reação e a energia de cavitação.

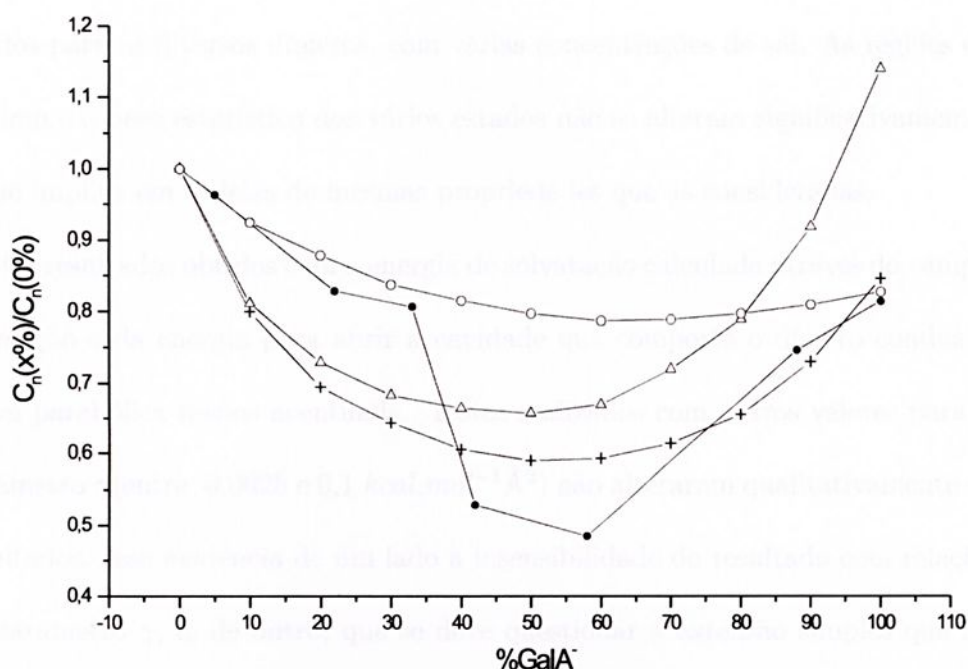


Figura 4.9: Valores de $C_n(x\%)/C_n(0\%)$ em função do percentual de monômeros carregados. (○) Cadeias geradas usando o valor de γ fixo. (Δ) Com os valores de γ listados na tabela 3.1. (+) Considerando somente a energia interna. (●) Dados de espalhamento de luz estático obtidos por Plaschina e col.[50].

As curvas da figura evidenciam que nesse limite de aproximação todos os modelos têm o mesmo comportamento qualitativo, ou seja, apresentam uma forma parabólica para a razão característica como função do grau de ionização. A razão para este comportamento parabólico é que, devido a sequência aleatória dos monômeros, os quatros mapas para cada aproximação são usados e eles, como discutido anteriormente, pesam de forma diferente as regiões da superfície

de energia de cada dímero. Ressaltamos, ainda, que estamos trabalhando numa aproximação em que somente os vizinhos imediatos interagem, o que, no caso de cadeias carregadas requer uma considerável quantidade de sal suporte.

Cálculos das energias de solvatação usando o campo de reação foram realizados para os diversos dímeros, com várias concentrações de sal. As regiões de mínimo e o peso estatístico dos vários estados não se alteram significativamente, o que implica em cadeias de mesmas propriedades que as consideradas.

Os resultados obtidos com a energia de solvatação calculada através do campo de reação e da energia para abrir a cavidade que comporte o dímero conduz à curva parabólica menos acentuada. Testes realizados com outros valores para o parâmetro γ (entre $-0,0025$ e $0,1 \text{ kcal.mol}^{-1} \text{ \AA}^2$) não alteraram qualitativamente os resultados. Isso evidencia de um lado a insensibilidade do resultado com relação ao parâmetro γ , e, de outro, que se deve questionar a extensão simples que foi realizada aqui no sentido de que a energia da cadeia pode ser considerada como a soma dos pares de monômeros. Os resultados sugerem que, para esse tipo de aproximação, se deve proceder ao cálculo da solvatação para toda cadeia.

Os resultados obtidos com a energia de solvatação usando o modelo WSAS são qualitativamente melhores e sugerem que uma parametrização mais adequada dos valores de γ_i 's pode melhorar a concordância dos resultados. A vantagem desse modelo é a simplicidade de cálculo.

Por fim, os dados usando a energia interna são aqueles que mais se aproximam do comportamento experimental. Isso, provavelmente, se deve ao fato dessa



abordagem ser mais coerente com a aproximação de condição- θ . Nesse sentido, cálculos com os outros dois procedimentos sem a fatoração da energia total nas energias por dímeros terão que ser realizados.



4.4 Conclusão

O objetivo deste trabalho foi estudar o efeito do solvente nas dimensões não perturbadas das cadeias poligalacturônicas ácidas(PGA), observando as influências devido a presença e quantidade de grupos ionizados na sequência da cadeia. Três prescrições foram adotadas para obter a energia conformacional das quatro combinações diméricas estudadas:

- 1- Considerando apenas a energia interna(sem a contribuição do termo de cavitação e do campo de reação).
- 2- Adicionando à energia interna o termo de solvatação calculado com γ fixo na energia de cavitação.
- 3- E assumindo o modelo WSAS de Kollman e colaboradores para a energia de solvatação, somando-se à mesma a energia interna.

O comprimento de persistência e a razão característica foram analisados para as cadeias de PGA totalmente carregadas e totalmente neutras. Observamos que esses parâmetros, nas prescrições 1 e 2 citadas acima para a energia, indicam cadeias menos estendidas no caso de cadeias carregadas do que no caso completamente neutro. Usando o modelo WSAS, obtivemos resultados semelhantes aos de Tvaroska e colaboradores, isto é, as cadeias carregadas são mais estendidas que as neutras. Esse comportamento seria intuitivamente esperado, porém na aproximação realizada, ou seja, na condição em que as interações de longo alcance foram compensadas, vê-se que este não é necessariamente o caso, com o resul-



tado dependente do tratamento dado ao solvente sobre a superfície de energia dos dímeros.

Variando-se a quantidade de grupos ionizados na cadeia e comparando os resultados com os dados experimentais de espalhamento de luz estático, os três modelos mostram uma concordância qualitativa com os dados experimentais, ou seja, reproduzem o caráter parabólico para a razão característica em função do grau de ionização. Quantitativamente, o modelo que mais se aproxima do valor mínimo experimental para a razão característica é aquele no qual somente a energia interna é considerada. Como se argumentou anteriormente, ele é o mais coerente com a aproximação de estados independentes. Uma calibração mais adequada dos valores de γ_i , ou mesmo o uso de um modelo com todos os átomos, pode melhorar os resultados com o modelo WSAS, tais testes estão presentemente em curso. O modelo que usa o campo de reação para calcular o efeito eletrostático do solvente foi que mais se afastou do mínimo da curva experimental, embora seja o que deu melhor resultado para cadeias fracamente ionizadas(até 30% de grupos carregados). Nesse caso, parece questionável, mais do que nos outros, a utilização de estados independentes. Simulações com a cadeia completa seriam necessárias.



Referências Bibliográficas

- [1] STACY M, BARKER S. A. **Carbohydrates in Living Tissues**. London: Van Nostrand, 1962.
- [2] ASPINALL, G. O. **Polysaccharides**. New York: Pergamon Press, 1970.
- [3] RAO, V. S. R. et al., **Conformation of Carbohydrates**. Amsterdam, Harword Academic publishers, 1998.
- [4] BRANT, D. A., Conformational theory applied to polysaccharide structure. *Rev. Biophys.*, vol.9, p.527-596, 1976.
- [5] MADURA, J. D. et al., Biological applications of eletrostatic calculations and brownian dynamics simulations. *Rev. Comp. Chem.*, vol.5, p.229-267, 1994.
- [6] WANG, J. et al. Solvation model based on weighted solvent accessible surface area. *J. Phys. Chem.*, vol.105 p.5055-5067, 2001.
- [7] CAHN, R. S. et al., Specificationof molecular chirality. *Angew. Chem.*, Int. Ed. Engl. vol.5, p.385-415, 515, 1966.
- [8] MARCHESSAULT, R. H. **Abbreviation and simbols for the description of conformation of polysaccharide chains**. Draft SCBN/PS/7 of the IUPAC-IUB Subcommittee on Biochemical Nomenclature, 1975.

- [9] SCHWARZ, J. C. P., Rules for nomenclature for five and six-membered rings in monosaccharides and their derivatives. *J. Chem. Soc. Chem. Comm.*, p.505-508, 1973.
- [10] SCHERAGA, H. A., Theoretical and experimental studies of conformations of polypeptides. *Chem. Rev.*, vol.71, p.195-217, 1971.
- [11] FLORY, P. J., Foundations of rotational isomeric state theory and general methods for generating configurational averages. *Macromolecules*, vol.7, p.381-92, 1974.
- [12] FLORY, P. J. **Statistical Mechanics of Chain Molecules**. New York: Wiley-Interscience, 1969.
- [13] BRANT, D. A., Dimpfl, W. L. A theoretical interpretation of the aqueous solutions properties of amylose and its derivatives. *Macromolecules*, vol.3, p.655-64, 1970.
- [14] GÖ, N., SCHERAGA, H. A., Ring closure and local conformation deformations of chain molecules. *Macromolecules*, vol.3, p.178-87, 1970.
- [15] GÖ, N., SCHERAGA, H. A., Ring closure in chain molecules with C_n , I or S_{2n} symmetry. *Macromolecules*, vol.6, p.273-81, 1973.
- [16] ARNOTT, S., SCOTT, W. E., Accurate X-ray diffraction analysis of fibrous polysaccharides containing pyranose rings. *J. Chem. Soc. Perkin II*, p.324-35, 1972.
- [17] HILL, T. L. **Introduction to Statistical Thermodynamics**. Reading, Massachusetts: Addison-Wesley, 1960.
- [18] HERSCHBACH, D. R., JOHNSTON, H. S., RAPP, D., Molecular partition functions in terms of local properties. *J. Chem. Phys.*, vol.31, p.1652-61, 1959.



- [19] DE VOE, H. **Structure and Stability of Biological Macromolecules**. Ed. S. N. Timasheff and G. D. Fasman, New York: Marcel Dekker, p.1-63, 1967.
- [20] GÖ, N., SCHERAGA, H. A., Analysis of contribution of internal vibrations to the statistical weights of equilibrium conformations of macromolecules. *J. Chem. Phys.*, vol.51, p.4751-67, 1969.
- [21] BRANT, D. A., GOEBEL, K. D., A general treatment of the configurational statistical of polysaccharides. *Macromolecules*, vol.8, p. 522-30, 1975.
- [22] GOEBEL, K. D. et al., The configurational statistics of cellulosic chain. *Applied Polymer Symposium*, vol.28, p.671-691, 1976.
- [23] FLORY, P. J. **Principles of Polymer Chemistry**. Ithaca, New York: Cornell University Press, 1953.
- [24] FLORY, P. J., Molecular configuration in bulk polymers. *Pure appl. Chem. Macromol. Chem.*, vol.8, p.1-15, 1973.
- [25] HONIG, B., NICHOLLS, A., Classical eletrostatics in biology and chemistry. *Science*, vol.268, p.1144-1149, 1995.
- [26] FOGOLARI, F. et al., The Poisson-Boltzmann equation for biomolecular eletrostatics: a tool for strutural biology. *J. Mol. Recognit.*, vol.15, p.377-392, 2002.
- [27] YOU, T. J., HARVEY S. C., Finite element approach to the electrostatics of macromolecules with arbitrary geometries. *J. Comput. Chem.*, vol.14, p.484-501, 1993.
- [28] ZHOU, H. X., Boundary element solution of macromolecular electrostatics: interaction energy between two proteins. *J. Biophys.*, vol.65, p.955-963, 1993.



- [29] BOYD, D. B., Compendium of Molecular Modeling Software. *Rev. Comput. Chem.*, vol.4, p.239-257, 1993.
- [30] TANNER, D. W., BERRY, G. C., Properties of cellulose acetate in solution. Light scattering, osmometry, and viscometry on dilute solution. *J. Polym. Sci.: Polym. Phys.*, vol.12, p.941-75, 1974.
- [31] WILSON, E. B. et al. **Molecular Vibrations**. New York: McGraw-Hill, 1955.
- [32] RAMACHANDRAN, G. N., SASISEKHARAN, V., Conformations of polypeptides and proteins. *Adv. Protein Chem.*, vol.23, p.283-439, 1968.
- [33] HOPFINGER, A. J. **Conformational Properties of Macromolecules**. New York: Academic Press, 1973.
- [34] ENGLER, E. M. et al., Critical evaluation of molecular mechanics. *J. Am. Chem. Soc.*, vol.95, p.8005-25, 1973.
- [35] BOWEN, H. J. M., SUTTON, L. E. **Tables of Interatomic Distances and Configuration in Molecules and Ions**. The Chemical Society(London). Supplement, 1965.
- [36] FRENCH, A. D., MURPHY, V. G., The effects of changes in ring geometry on computer models of amylose. *Carbohydrates Res.*, vol.27, p.391-406, 1973.
- [37] ORVILLE-THOMAS, W. J. **Internal Rotation in Molecules**. New York: Wiley-Interscience, 1974.
- [38] SCHERAGA, H. A., Calculations of conformations of polypeptides. *Advan. Phys. Org. Chem.*, vol.6, p.103-84, 1968.
- [39] YATHINDRA, N., RAO, V. S.R., Configurational statistics of polysaccharide chains. II. Cellulose. *Biopolymers.*, vol.9, p.783-90, 1970.



- [40] GOEBEL, K. D., BRANT, D. A., The conformational energy of maltose and amylose. *Macromolecules.*, vol.3, p.634-43, 1970.
- [41] CLELAND, R. L., Ionic polysaccharides. V. Conformational studies of hyaluronic acid, cellulose, and laminarin. *Biopolymers.*, vol.10, p.1925-48, 1971.
- [42] BRANT, D. A., Conformational analysis of biopolymers: Conformational energy calculations. *A. Rev. Biophys. Bioeng.*, vol.1, p.369-408, 1972.
- [43] SHARP, K. A., HONIG B., Calculating total electrostatic energies with the nonlinear Poisson-Boltzmann equation. *J. Phys. Chem.*, vol.94, p.7684-7692, 1990.
- [44] HOLST, M. et al., Protein electrostatic: rapid multigrid-based Newton algorithm for solution of the full nonlinear Poisson-Boltzmann equation. *J. Biomol. Struct. Dyn.*, vol.11, p.1437-1445, 1994.
- [45] HOLST, M. et al., Treatment of electrostatics effects in protein: multigrid-based Newton iterative method for solution of the full nonlinear Poisson - Boltzmann equation. *Proteins Struct. Funct. Genet.*, vol.18, p.231-245, 1994.
- [46] BAKER, N. A. et al., Electrostatics of nanosystems: application to microtubules and the ribosome. *PNAS*, vol.98, n.18, p.10037-10041, 2001.
- [47] RUGGIERO, J. R. et al., Conformational features of galacturonans.I. Structure and energy minimization of charged and uncharged galacturonan dimeric units. *Int. J. Biol. Macromol.*, vol.17, p.205-212, 1995.
- [48] TVAROSKA, I. et al., Conformation statistics of pectin substances in solution by Metropolis Monte Carlo study. *Carbohydrate Polymers.*, vol.32, p.255-266, 1997.
- [49] RUGGIERO, J. R. et al., Conformational features of galacturonans. II. Con-



- figurational statistics of pectic polymers. *Int. J. Biol. Macromol.*, vol.17, p.213-218, 1995.
- [50] PLASCHINA, I. J. et al. Structural studies of the solutions of anionic polysaccharides. IV. Study of pectin solutions by light-scattering. *Carbohydr. Polym.*, vol.5, p.159, 1985.
- [51] TVAROSKA, I. et al., The role of chemical structure on the stereochemistry of the α -(1-4) diaxial glycosidic linkage. *J. Mol. Struct.*, vol.344, p.157-170, 1995.



Apêndice A

Solução analítica para o caso de simetria esférica

Consideremos a vizinhança esfericamente simétrica em torno de um íon particular central do tipo j . O potencial eletrostático a uma distância r do íon central e a densidade de carga média em r serão denotados por $\psi_j(r)$ e n_j , respectivamente. O zero do potencial é escolhido em $r = \infty$.

Devido a presença do íon central j , $\psi_j(r)$ e n_j serão diferentes de zero em r finito. A região sob a qual $\psi_j(r)$ e n_j diferem significativamente de zero é chamada de atmosfera iônica do íon central j . Quando $r \rightarrow \infty$, $n_j \rightarrow 0$, devido a condição de neutralidade, a concentração média de íons do tipo i a uma distância r do íon central j é

$$\rho_i^j(r) = \rho_i \exp[-\omega_{ij}/kT], \quad (\text{A.1})$$

onde ρ_i é a concentração de ions do tipo i no volume e ω_{ij} é o potencial de força média. Com a suposição de que para $r \geq a$ (diâmetro do ion), temos $-\omega_{ij} \approx z_i e \psi_j(r)$ e

$$\rho_i^j(r) = \rho_i \exp[-z_i e \psi_j(r)/kT]. \quad (\text{A.2})$$

É importante salientar que a equação A.2 é, em geral, não exata, sendo exata no limite de soluções muito diluídas. Logo, a densidade de carga em r é

$$n_j(r) = e \sum_i z_i \rho_i^j(r) = e \sum_i z_i \rho_i \exp[-z_i e \psi_j(r)/kT] \quad (\text{A.3})$$

para $(r \geq a)$. Com a segunda aproximação de Debye-Hückel, $z_i e \psi_j(r)/kT \ll 1$, podemos expandir a exponencial até o termo linear e, mais um vez, esta aproximação também será válida se a solução for bem diluída. O primeiro termo na expansão $\sum_i z_i \rho_i$ é igual a zero devido a condição de neutralidade. Finalmente, a equação de PB, torna-se

$$\frac{1}{r} \frac{d^2(r\psi_j)}{dr^2} = k^2 \psi_j \quad (r \geq a) \quad (\text{A.4})$$

onde

$$k^2 = \frac{4\pi e^2}{\epsilon kT} \sum_i \rho_i z_i^2. \quad (\text{A.5})$$



A soma na equação A.5 é duplamente a "força iônica" (I) e então $k \propto I^{1/2}$ e $k \rightarrow 0$, quando a solução aproxima-se de uma diluição infinita. Reescrevendo a equação A.4 na forma familiar

$$\frac{d^2(r\psi_j)}{dr^2} = k^2(r\psi_j)$$

vemos que a solução será

$$r\psi_j = C_1 \exp(-kr) + C_2 \exp(+kr).$$

Sabemos que $\psi_j \rightarrow 0$ quando $r \rightarrow \infty$, e temos que escolher $c_2 = 0$. Portanto

$$\psi_j(r) = \frac{C_1 \exp(-kr)}{r} \quad (r \geq a). \quad (\text{A.6})$$

Para avaliar C_1 , consideraremos a situação em que $r = a$ onde nenhuma carga pode estar presente exceto a carga $z_j e$ em $r = a$. A equação de Laplace é portanto satisfeita no interior da esfera. Chamaremos de φ_j o potencial eletrostático no interior da esfera. Então

$$\nabla^2 \varphi_j = \frac{1}{r} \frac{d^2(r\varphi_j)}{dr^2} = 0 \quad (r < a) \quad (\text{A.7})$$

As integrações sucessivas nos dará

$$\frac{d(r\varphi_j)}{dr} = C_3 \quad (\text{A.8})$$



e

$$\varphi_j(r) = C_3 + \frac{C_4}{r} \quad (r < a). \quad (\text{A.9})$$

Quando $r \rightarrow 0$, φ_j deve se aproximar do potencial de Coulomb $z_j e / \epsilon r$. Portanto, $C_4 = z_j e / \epsilon$. Para avaliar as constantes C_1 e C_2 usaremos as condições de fronteira em $r = a$:

$$\begin{aligned} \psi_j(a) &= \varphi_j(a), \\ \psi'_j(a) &= \varphi'_j(a). \end{aligned} \quad (\text{A.10})$$

Com essas condições, determinamos as constantes procuradas. A equação A.6, através da A.10, fornecerá:

$$\begin{aligned} C_1 &= \frac{z_j e \exp[ka]}{\epsilon(1 + ka)}, \\ C_3 &= -\frac{z_j e k}{\epsilon(1 + ka)}. \end{aligned}$$

Portanto,

$$\psi_j(r) = \frac{z_j e e^{[-k(r-a)]}}{\epsilon r(1 + ka)} \quad (r \geq a). \quad (\text{A.11})$$



Apêndice B

Método das diferenças finitas para a equação de PB

O método das diferenças finitas consiste em discretizar o espaço em uma rede cúbica com o potencial, a densidade de carga e a acessibilidade dos ions definidos nos pontos da rede, frequentemente chamados de nós, e a constante dielétrica é definida no ponto médio da linha que une dois pontos da rede.

Seja o ponto j da rede, com coordenadas (x, y, z) , o ponto de referência e h um número positivo. A malha de passo h associado a (x, y, z) é o conjunto dos pontos

$$x_i = x \pm ih$$

$$y_i = y \pm ih$$

$$z_i = z \pm ih$$

para $i = 1, 2, \dots$

As aproximações $\psi(x, y, z)$ serão calculadas nos pontos desta rede. A ferramenta matemática básica na definição de aproximações para derivadas é a série de Taylor, que para uma função $g(x)$ tendo derivadas até ordem $n + 1$ em x , pode ser escrita da seguinte forma:

$$g(x + h) = g(x) + hg'(x) + \frac{h^2}{2!}g''(x) + \dots + \frac{h^n}{n!}g^{(n)}(x) + \frac{h^{n+1}}{(n+1)!}g^{(n+1)}(\xi)$$

onde ξ está entre x e $x + h$. O último termo da expansão acima representa o erro da aproximação de $g(x + h)$ pelos $n + 1$ primeiros termos da série de Taylor.

Devemos obter as expansões dos seis vizinhos em torno do ponto j da rede, sendo assim temos

$$\begin{aligned}\psi_1(x + h, y, z) &= \psi_j(x, y, z) + h \frac{\partial \psi_j(x, y, z)}{\partial x} + \frac{h^2}{2!} \frac{\partial^2 \psi_j(x, y, z)}{\partial x^2} + \dots \\ \psi_2(x - h, y, z) &= \psi_j(x, y, z) - h \frac{\partial \psi_j(x, y, z)}{\partial x} + \frac{h^2}{2!} \frac{\partial^2 \psi_j(x, y, z)}{\partial x^2} + \dots \\ \psi_3(x, y + h, z) &= \psi_j(x, y, z) + h \frac{\partial \psi_j(x, y, z)}{\partial y} + \frac{h^2}{2!} \frac{\partial^2 \psi_j(x, y, z)}{\partial y^2} + \dots \\ \psi_4(x, y - h, z) &= \psi_j(x, y, z) - h \frac{\partial \psi_j(x, y, z)}{\partial y} + \frac{h^2}{2!} \frac{\partial^2 \psi_j(x, y, z)}{\partial y^2} + \dots \\ \psi_5(x, y, z + h) &= \psi_j(x, y, z) + h \frac{\partial \psi_j(x, y, z)}{\partial z} + \frac{h^2}{2!} \frac{\partial^2 \psi_j(x, y, z)}{\partial z^2} + \dots \\ \psi_6(x, y, z - h) &= \psi_j(x, y, z) - h \frac{\partial \psi_j(x, y, z)}{\partial z} + \frac{h^2}{2!} \frac{\partial^2 \psi_j(x, y, z)}{\partial z^2} + \dots\end{aligned}$$

Somando as equações obtemos

$$\sum_i^6 \psi_i = 6\psi_j + \nabla^2 \psi_j h^2$$



ou, de outra forma

$$\sum_i^6 (\psi_j - \psi_i) = -\nabla^2 \psi_j h^2$$

Assumindo a equação de PB na forma linear

$$\nabla^2(\epsilon_j \psi_j) = -4\pi\rho + \epsilon_j k_D^2 \lambda_j \psi_j,$$

e usando a penúltima equação obtemos:

$$\sum_i^6 \epsilon_i (\psi_j - \psi_i) = 4\pi\rho h^2 - \epsilon_j k_D^2 \lambda_j h^2 \psi_j$$

O primeiro termo do segundo membro pode ser reescrito como $\frac{4\pi q_j}{h}$ onde q_j é a carga no ponto j da malha. E finalmente, o algoritmo para o potencial na rede é dado por

$$\psi_j = \frac{\sum_i^6 \epsilon_i \psi_i + \frac{4\pi q_j}{h}}{\sum_i^6 \epsilon_i + \epsilon_j k_D^2 \lambda_j h^2}$$

