



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de São José do Rio Preto

LUAN CELSO MARQUES

Interação entre Polieletrólitos e Macromoléculas
Heterogeneamente Carregadas.

São José do Rio Preto
2020

Luan Celso Marques

**Interação entre Polieletrólitos e Macromoléculas
Heterogeneamente Carregadas.**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biofísica Molecular, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biofísica Molecular, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: FAPESP – Proc. 2018/01841-2
CNPq
CAPES

Orientador: Prof. Dr. Sidney J. de Carvalho
Coorientador: Dr. Daniel L. Z. Caetano

**São José do Rio Preto
2020**

M357i Marques, Luan Celso
Interação entre Polieletrólitos e Macromoléculas Heterogeneamente Carregadas / Luan Celso Marques. -- São José do Rio Preto, 2020
67 f.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto

Orientador: Sidney Jurado de Carvalho
Coorientador: Daniel Lucas Zago Caetano

1. Polímeros. 2. Interação Eletrostática. 3. Adsorção. 4. Distribuição heterogênea de cargas. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Luan Celso Marques

**Interação entre Polieletrólitos e Macromoléculas
Heterogeneamente Carregadas.**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biofísica Molecular, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biofísica Molecular, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: FAPESP – Proc. 2018/01841-2
CNPq
CAPES

Comissão Examinadora

Prof. Dr. Sidney Jurado de Carvalho
UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto
Orientador

Prof. Dr. Alexandre Suman de Araujo
UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto

Prof. Dr. Ronaldo Junior de Oliveira
Universidade Federal do Triângulo Mineiro – Uberaba

São José do Rio Preto
07 de Fevereiro de 2020

Dedico este trabalho a toda minha família.

Agradecimentos

Aos meus pais, Celso Marques e Andrea Donizeti Guimarães Marques que sempre me incentivaram e apoiaram.

À minha noiva Samara, por todo amor, companheirismo e apoio em todos os momentos.

Aos meus amigos Leo e Galba por todo incentivo e apoio.

Aos meus amigos que fiz aqui em Rio Preto, Eduardo, Grazi, Lucas, Matheus, Neto e muitos outros que infelizmente não poderei destacar aqui, pelo incentivo e apoio.

À todos professores e servidores do Departamento de Física.

Ao Daniel por toda ajuda, paciência e incentivo.

Ao Professor Sidney pela orientação, incentivo, confiança e enorme paciência.

Aos professores Alexandre e Ronaldo que aceitaram gentilmente participar da minha banca.

A todos que, de alguma forma, contribuíram no desenvolvimento deste trabalho, diretamente ou indiretamente, e que não mencionei aqui.

Ao apoio financeiro do CNPq.

Agradeço à FAPESP pela concessão da bolsa de pesquisa, sob o processo nº 2018/01841-2, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, à qual agradeço,

Esta pesquisa tornou-se possível graças aos recursos computacionais disponibilizados pelo Núcleo de Computação Científica (NCC/GridUNESP) da Universidade Estadual Paulista (UNESP).

“Se não puder voar, corra. Se não puder correr, ande. Se não puder andar, rasteje, mas continue em frente de qualquer jeito [1].”

Resumo

Sabe-se que vários processos biológicos são mediados por interações entre polieletrólitos e proteínas, como a interação entre as proteínas histonas e a molécula de DNA no nucleossomo. Outro exemplo importante é a formação de complexos solúveis de glicosaminoglicanos (GAGs) em proteínas, como o complexo formado por heparina (Hp) e albumina sérica bovina (BSA). Neste caso, a agregação é dada principalmente por interações eletrostáticas, como observado em estudos experimentais que constatarem a dependência da formação do complexo Hp-BSA com o pH e a força iônica da solução. Este estudo tem como objetivo investigar a interação entre os polieletrólitos e macromoléculas com distribuições de cargas heterogêneas, como proteínas, por meio de simulações de Metropolis Monte Carlo. A proteína foi representada como uma cavidade esférica com uma distribuição de carga arbitrária. O polieletrólito foi modelado por uma cadeia de esferas rígidas carregadas conectadas por um potencial harmônico. A solução eletrolítica foi representada implicitamente através da teoria de Debye-Hückel, onde a interação eletrostática entre os monômeros do polieletrólito é dada pelo potencial de Coulomb. A interação entre o polieletrólito e a proteína é calculada usando o modelo proposto por Kirkwood. Os efeitos da concentração de sal, distribuição de carga da proteína e comprimento de polieletrólito nas propriedades energéticas e conformacionais do polímero foram investigados. Analisando a dependência da energia de ligação média e o raio de giro com a força iônica, foi possível identificar transições descontínuas entre os estados ligados e não ligados do polímero.

Palavras-chave: Polímeros. Interação Eletrostática. Adsorção. Distribuição heterogênea de cargas.

Abstract

It is known that several biological processes are mediated by interactions between polyelectrolytes and proteins, such as the interaction between histone proteins and DNA molecule in the nucleosome. Another important example is the aggregation of glycosaminoglycans (GAGs) into proteins, such as the complex formed by heparin (Hp) and bovine serum albumin (BSA). In this case, the aggregation is mainly given by electrostatic interactions as observed in experimental studies which contacted the dependence of the formation of the Hp-BSA complex with the pH and ionic strength of the solution. This study aims to investigate the interaction between the polyelectrolytes and macromolecules with heterogeneous charge distributions, like proteins, by means of Metropolis Monte Carlo simulations. The protein was represented as a spherical cavity with an arbitrary point-like charge distribution. The polyelectrolyte was modeled by a chain of charged hard spheres connected by a harmonic potential. The electrolyte solution was represented implicitly through the Debye-Hückel theory, where the electrostatic interaction among the monomers of the polyelectrolyte is given by the screened Coulomb potential. The interaction between the polyelectrolyte and the protein is calculated using the model proposed by Kirkwood. The effects of salt concentration, charge distribution of the protein and polyelectrolyte length on the energetic and conformational properties of the polymer were investigated. Analyzing the dependence of the mean binding energy and the radius of gyration with the ionic strength, it was possible to identify discontinuous transitions between bound and unbound states of polymer.

Keywords: Polyelectrolytes. Electrostatic Interaction. Adsorption. Heterogeneous Charge Distribution.

Lista de Figuras

1.1	Representação ilustrativa dos resultados do método WKB para adsorção crítica, aplicado na situação limite de baixo sal.	18
3.1	Representação ilustrativa do modelo adaptada para a cadeia polimérica. Na imagem os monômeros carregados positivamente, e , são representados pelas esferas azuis e as ligações dadas pelo potencial harmônico em cinza.	23
3.2	Representação ilustrativa do modelo da macromolécula. Região 1, macromolécula de raio b e constante dielétrica ϵ_m com distribuição heterogênea de cargas pontuais representadas pelas esferas azuis (cargas positivas) e vermelhas (cargas negativas). Região 2, solução eletrolítica. .	24
3.3	Representação ilustrativa do potencial calculado na superfícies de macromoléculas com distribuições heterogênea de cargas a partir do potencial descrito no modelo. As cores azul e vermelho representam, respectivamente, os potenciais eletrostáticos positivo e negativo. Potencial para as distribuições de 1) Carga $Z = -10$ fixada na origem; 2) Carga $Z = -10$ deslocada da origem; 3) Dipolo com cargas $Z = \pm 10$; 4) Quadripolo com cargas $Z = \pm 10$; 5) Octopolo com cargas $Z = \pm 10$; 6) Distribuição de cargas do domínio alfa da proteínas BSA, retirado do PDB (1ao6.pdb). As distribuições heterogêneas de cargas pontuais foram representadas pelas esferas azuis (cargas positivas) e vermelhas (cargas negativas), as coordenadas estão indicadas no apêndice 5.	26
3.4	Representação esquemática dos possíveis movimentos aplicados para gerar as novas configurações do sistema durante a simulação. 1), Translação de um monômero. 2) Translação da cadeia inteira. 3) Movimento de Pivô.	31

- 4.1 Energia de ligação média, $\langle E_B \rangle$, em função do inverso do comprimento de Debye (κ). A curva apresenta os resultados da simulação de um polieletrólito formado por 20 monômeros (cada um com uma carga elementar central $Z_m = e$) na presença de um dipolo com cargas $Z = \pm 30$, posicionadas nas coordenadas $(10, 0, 0)$ e $(-10, 0, 0)$. A região 1 apresenta os valores de κ para os quais o polímero apresenta-se no estado adsorvido. A região 2, delimitada por $\kappa^* = 0,172 \text{ \AA}^{-1}$ e $\kappa' = 0,207 \text{ \AA}^{-1}$, apresenta o intervalo de κ em que o polímero apresenta-se em coexistência entre os estados adsorvido-dessorvido. A região 3 corresponde aos valores de κ para os quais o polímero apresenta-se somente no estado dessorvido. 34
- 4.2 Configurações geradas pela simulação para um polímero com $N_m = 20$ monômeros, na presença de um dipolo com carga igual a $Z = \pm 30$, posicionadas nas coordenadas $(10, 0, 0)$ e $(-10, 0, 0)$, para três valores de κ : A) $\kappa = 0,01 \text{ \AA}^{-1}$ (1 mM), B) $\kappa = 0,09 \text{ \AA}^{-1}$ (75 mM) e c) $\kappa = 0,16 \text{ \AA}^{-1}$ (250 mM). A escala de cor ilustra o potencial eletrostático na superfície da esfera. 35
- 4.3 (A) Energia de ligação E_B de um polímero com $N_m = 20$ monômeros na presença de uma macromolécula com distribuição de carga dada por um dipolo com $Z = \pm 30$, posicionadas nas coordenadas $(10, 0, 0)$ e $(-10, 0, 0)$, em uma concentração de sal igual 300 mM. (B) Distribuição da probabilidade $P(E_B)$ do sistema assumir uma energia E_B para um polieletrólito com $N_m = 20$ e uma macromolécula com distribuição de carga dada por um dipolo com $Z = \pm 30$ em concentrações de sal diferentes: 250 mM (linha sólida) e 300 mM (linha pontilhada). 35
- 4.4 Energia de ligação média, $\langle E_B \rangle$, em função do inverso do comprimento de Debye (κ). A curva apresenta os resultados da simulação de um polieletrólito formado por 20 monômeros (cada um com uma carga elementar central $Z_m = e$) na presença de uma macromolécula com distribuição de carga dada por um quadrupolo com cargas $Z = \pm 30$ (quadrados vazios). Os κ^* e κ' delimitam a região de coexistência entre os estados adsorvido e dessorvido do polieletrólito. 36
- 4.5 Configuração gerada pela simulação para um polímero com $N_m = 20$ monômeros, na presença de uma macromolécula de carga dada por um quadrupolo de cargas $Z = \pm 30$ e em $\kappa = 0.033 \text{ \AA}^{-1}$. A escala de cor ilustra o potencial eletrostático na superfície da esfera. 37

4.6	Raio de giro quadrático médio, $\langle R_G \rangle$, em função do inverso do comprimento de Debye κ para um polímero com $N_m = 20$ monômeros na presença de uma macromolécula com distribuição de carga dada por um dipolo com $Z = \pm 30$ (triângulos vazios) e livre em solução, ou seja, na ausência da macromolécula (linha tracejada).	38
4.7	Raio de giro quadrático médio, $\langle R_G \rangle$, em função do inverso do comprimento de Debye κ para um polímero de $N_m = 20$ monômeros na presença de uma macromolécula com distribuição de cargas dada por um quadrupolo com $Z = \pm 30$ (quadrados vazios) e livre livre em solução, ou seja, na ausência da macromolécula (linha tracejada).	39
4.8	(A) Energia de ligação média, $\langle E_B \rangle$, em função da carga Z do dipolo para um polímero com $N_m = 20$ monômeros em uma concentração de sal igual a $C_S = 10^{-4}$ M. (B) Raio de giro quadrático médio $\langle R_G \rangle$ em função da carga Z do dipolo para um polímero com $N_m = 20$ monômeros em uma concentração de sal igual a $C_S = 10^{-4}$ M.	40
4.9	Configurações geradas pela simulação para um polímero com $N_m = 20$ monômeros, em uma concentração de sal igual a 10^{-4} M para uma macromolécula com duas distribuições dipolares de cargas diferentes: A) $Z = \pm 100$ e B) $Z = \pm 20$	41
4.10	Número de monômeros, n_P , em função da distância radial, r , ao centro da macromolécula para um polímero de $N_m = 20$ monômeros e na presença de uma macromolécula com distribuição de carga dada por um dipolo com $Z = 100$ (losangos branco), $Z = 60$ (losangos preto) e $Z = 20$ (losangos cinza).	42
4.11	Distribuição da probabilidade, $P(E_B)$, do sistema assumir uma energia E_B para um polieletrólito com $N_m = 20$ e uma macromolécula com distribuição de carga dada por um dipolo com cargas $Z_- = 40$ e $Z_+ = 82$ em três concentrações de sal diferentes: $C_S = 17$ mM (círculo vazio), $C_S = 250$ mM (quadrado vazio) e $C_S = 320$ mM (triângulo vazio). O inserto apresenta a trajetória da energia de ligação, E_B , do polímero na concentração de sal igual $C_S = 320$ mM.	43
4.12	Fração de configurações adsorvidas do polímero em função de κ para um sistema formado por uma macromolécula com distribuição de carga dada por dipolo com cargas iguais a $Z_- = -40$ e $Z_+ = 82$ e um polímero formado por $N = 20$ monômeros. O gráfico interior apresenta a energia média de ligação durante a simulação.	44

4.13	Configuração gerada pela simulação para um polímero com $N_m = 20$ monômeros, na presença de uma macromolécula de carga dada por um dipolo de cargas $Z_- = 40$ e $Z_+ = 82$. A escala de cor ilustra o potencial eletrostático na superfície da esfera (mV).	45
4.14	Magnitude das cargas da macromolécula em função da concentração de sal crítica, κ_C , para um sistema formado por um polímero com $N_m = 20$ monômeros e uma macromolécula com distribuição de cargas dada por um dipolo neutro (círculos vazios) ou por um quadrupolo neutro (quadrados vazios) e com raio $b = 20\text{\AA}$. Na região acima das curvas, as configurações predominantes do polímero são as adsorvidas, enquanto que na região abaixo das curvas, as configurações dessorvidas predominam.	46

Lista de Símbolos

k_B	Constante de Boltzmann
T	Temperatura
T_c	Temperatura crítica
κ	Inverso do comprimento de Debye
κ^{-1}	Comprimento de Debye
r_{ij}	Distância de centro a centro entre dois monômero
e	Carga elementar
b	Raio do macromolécula
l	Comprimento da cadeia polimérica
R_m	Raio do monômero
a	Expoente crítico
r_0	Distancia de equilíbrio de centro a centro dos monômeros
θ	Parâmetro de interação
δ	Parâmetro de adsorção
σ	Densidade de carga da superfície
σ_C	Densidade de carga crítica da superfície
R_C	Raio da célula de simulação
R_m	Raio dos monômeros do polímero
b	Raio da macromolécula
WKB	Wentzel-Kramers-Brillouin
r_{CM}	Posição do centro de massa
PB	Equação de Poisson-Boltzmann
$\vec{\mu}$	Momento de dipolo
E_B	Energia de ligação
U_m^r	Energia oscilação harmônico
U_c^{el}	Energia eletrostática entre monômero-macromolécula
r_{ij}	Distância de centro a centro entre dois monômeros
k_r	Constante elástica

C_S	Concentração de sal da solução
U_m^{el}	Energia eletrostática monômero-monômero
$k_n(x)$	Funções esféricas modificadas de Bessel do segundo tipo
R_G	Raio de giro do polímero
ξ	Densidade de carga do polímero
$j_{0,1}$	Primeiro zero da raiz positiva da função de Bessel
$r_{i,i+1}$	Distância entre monômeros sucessivos
$P_n(\cos \theta)$	Polinômios de Legendre
ϵ	Permissividade dielétrica
ϵ_0	Permissividade elétrica do vácuo
ϵ_s	Constante dielétrica da solução
ϵ_m	Constante dielétrica da macromolécula
z_i	Valência do i-ésimo monômero do polieletrólito
z_j	Valência do j-ésimo monômero do polieletrólito
N_m	Número de monômeros da cadeia polimérica
Z_k	Valência da k-ésima carga da macromolécula
Z_-	Carga da macromolécula com valência negativa
Z_+	Carga da macromolécula com valência positiva
n_P	Número de monômeros
N_a	Numero de Avogadro
V_{int}	Potencial eletrostático do interior da macromolécula
V_{ext}	Potencial eletrostático do exterior da macromolécula
$Y_{nm}(\theta, \phi)$	Esféricos harmônicos
N_c	Número de cargas da macromolécula
MC	Método de Monte Carlo
N_{MC}	Número de passos realizados pelo método de Monte Carlo
$\langle A \rangle$	Média da grandeza de interesse
$\langle R_G^2 \rangle$	Raio de giro quadrático médio
$\langle E_B \rangle$	Energia de ligação média
PDB	Protein data bank
DLS	Espalhamento dinâmico de luz
U_i^{total}	Energia total da configuração i i
U_f^{total}	Energia total da configuração f
P_n	Probabilidade do sistema assumir a configuração n
P_m	Probabilidade do sistema assumir a configuração n
X	Coordenada X do sistema de coordenadas cartesiano
Y	Coordenada X do sistema de coordenadas cartesiano
Z	Coordenada X do sistema de coordenadas cartesiano

ΔX	Variação na coordenada X
ΔY	Variação na coordenada Y
ΔZ	Variação na coordenada Z
ς	Número aleatório, definido dentro do intervalo $[0,1]$, relacionado ao critério de Metropolis
∇^2	Operador de Laplace
Δ	Variação da energia total
mM	Milimolar
e	Carga elementar
D	unidade dada ao momento dipolar, Debye
ξ_1	Número aleatório definido dentro do intervalo $[0,1]$, relacionado com a translação de um monomero
τ	Largura de uma fatia da célula de simulação

Sumário

1	INTRODUÇÃO	17
2	OBJETIVOS	21
3	METODOLOGIA	22
3.1	Modelo	22
3.2	Abordagem Computacional	27
3.2.1	Método de Monte Carlo Metrópolis	27
3.2.2	Código Computacional	28
3.2.3	Descrição do funcionamento do código	29
3.2.4	Calculo das Propriedades Médias	31
3.2.5	Informações dos parâmetros utilizados nas simulações	32
4	RESULTADOS	33
4.1	Efeito da variação da concentração de sal	33
4.2	Efeito da variação da carga do dipolo	40
4.2.1	Macromolécula com carga líquida	42
4.3	Condição crítica de adsorção	45
5	CONCLUSÕES	48
	REFERÊNCIAS	50
	APÊNDICE A - Dedução dos Potenciais Eletrostático da Macromolécula	54

APÊNDICE B - Solução Geral para o Caso Esférico	62
APÊNDICE C - Coordenadas das distribuições de cargas	66

Capítulo 1

INTRODUÇÃO

Diversos grupos de pesquisa teóricos e experimentais dedicam-se há décadas ao estudo da interação entre polieletrólitos e macroíons opostamente carregados [2–13]. Seus esforços são justificáveis devido à importância de tal fenômeno na modulação de uma infinidade de processos biológicos e no desenvolvimento de aplicações tecnológicas, como, por exemplo, na compactação do material genético (DNA-Histonas), na estabilização de suspensões coloidais, no tratamento de água e no encapsulamento de fármacos [14, 15]. Trabalhos experimentais constataram a predominância das interações eletrostáticas nestes processos, tal fato é evidenciado pela dependência da constante de ligação com o pH e com a força iônica da solução [16, 17].

Os primeiros trabalhos teóricos foram baseados em modelos simplificados que investigaram a adsorção de polieletrólitos em superfícies homogêneas opostamente carregadas. F. W. Wiegél, em seu influente trabalho, propôs um modelo para estudar a adsorção de uma cadeia gaussiana ideal em uma superfície plana opostamente carregada. Resolvendo analiticamente a equação de Edwards e considerando a interação superfície-polímero dada pelo potencial de Debye-Huckel, ele mostrou a existência de uma transição de fase cujas condições críticas seguem a relação de escala

$$k_B T_c = \frac{48\pi|\sigma\xi|}{j_{0,1}^2 \kappa^a l^2 \epsilon}, \quad (1.1)$$

sendo que $j_{0,1} \approx 2.4048$ é o primeiro zero da raiz positiva da função de Bessel; σ é a densidade de carga da superfície; κ^{-1} é o comprimento de Debye; T_c é a temperatura crítica; ϵ é a permissividade dielétrica do meio; k_B é a constante de Boltzmann; ξ é a densidade de carga do polímero; e l é o comprimento da cadeia. O valor obtido para o expoente crítico a foi igual 3, valor que caracteriza a transição de fase. Segundo F. W. Wiegél, a transição de fase pode ser um comportamento essencial para a regulação do

metabolismo celular, visto que diversas alterações no comportamento celular podem ser ocasionadas por pequenas variações em sua composição química [2, 18].

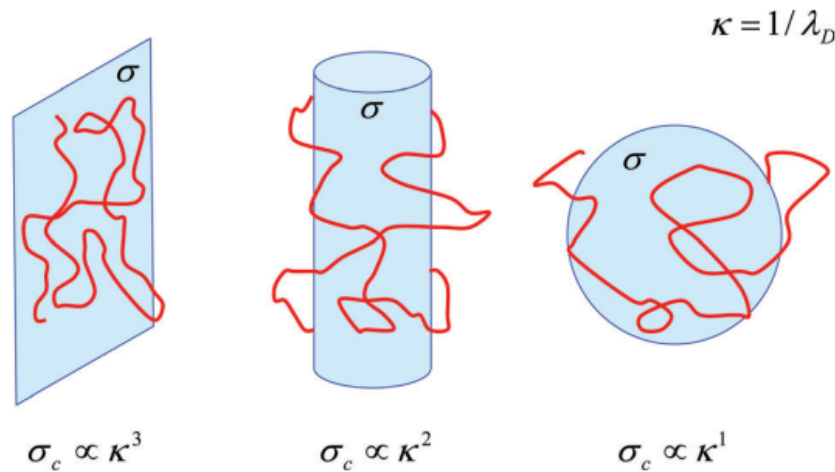
P. L. Dubin [5, 10, 12, 15, 19] e colaboradores aplicaram os modelos teóricos na interpretação de resultados empíricos obtidos por espalhamento dinâmico de luz (DLS) de soluções contendo micelas e polímeros opostamente carregados. Nesses experimentos, foram identificadas variações abruptas na turbidez quando a força iônica ou o pH da solução eram alterados. Estas variações foram relacionadas à formação de complexos solúveis, obedecendo a relação de escala

$$\sigma_c \sim \xi^{-1} \kappa^a, \quad (1.2)$$

sendo que σ_c é a densidade de carga crítica da superfície da micela. Obteve-se valores aproximados de $a \approx 1$ e 2 para micelas esféricas e cilíndricas, respectivamente [12]. A equação 1.2 obtida experimentalmente é compatível com a relação de escala teórica prevista por F. W. Wiegand, dada pela equação 1.1, que descreve a transição de fase.

M. Muthukumar e colaboradores investigaram a adsorção de polieletrólitos em superfícies curvas, situação mais complexa em razão de não existir solução analítica da equação de Edwards com o potencial de Coulomb blindado para coordenadas esféricas. Para isso, aplicaram o método variacional para uma cadeia gaussiana na presença de uma superfície curva, esférica e cilíndrica, homogeneamente carregada. Assim, obteve-se o expoente $a = 3$ para o limite de baixa curvatura, resultado que

Figura 1.1: Representação ilustrativa dos resultados do método *WKB* para adsorção crítica, aplicado na situação limite de baixo sal.



Fonte: Ilustração retirada da referência [20]

concorda com o caso plano. No entanto, o coeficiente crítico a encontrado para alta curvatura foi igual a $a = 2$ para ambos os casos, resultado distinto do obtido dos estudos empíricos com micelas esféricas [3, 4].

A. G. Cherstvy e colaboradores apontaram limitações do modelo de M. Muthukumar, relacionadas à função teste inadequada aplicada pelos autores. Como alternativa, A. G. Cherstvy propôs um modelo baseado na resolução da equação de Edwards através do método *WKB*, comumente utilizado para resolução da Equação de Schrödinger, que apresentou resultados para a adsorção de polieletrólitos flexíveis em superfícies planas e curvas opostamente carregadas consistente com os resultados experimentais [20]. Assim, recuperando o expoente de escala $a \approx 1, 2$ e 3 para superfícies esféricas, cilíndricas e planas, respectivamente (vide Figura 1.1).

Investigações por simulação computacional realizadas por S. J. de Carvalho e colaboradores observaram transições abruptas entre os estados adsorvido e dessorvido do polieletrólito com característica de uma transição de fase de primeira ordem. Avaliando a dependência das condições críticas com a força iônica e o pH da solução, foi possível recuperar os valores do expoente a obtidos experimentalmente e pelo modelo proposto por A. G. Cherstvy [9, 21, 22]. Além disso, S. J. de Carvalho também estudou o efeito de propriedades da cadeia polimérica, como, por exemplo, comprimento de persistência, distribuição das cargas e grau de polimerização nas propriedades conformacionais da cadeia adsorvida. Os resultados obtidos por simulações computacionais associados aos trabalhos teórico-analíticos e experimentais deram grandes contribuições para entendimento dos princípios fundamentais que regulam as interações entre polieletrólitos e superfícies homogêneas opostamente carregadas.

Mais recentemente, P. L. Dubin e colaboradores estudaram a formação de complexos polieletrólito-proteína, tais como a Albumina do Soro Bovino (BSA) e Heparina (Hp) [23], para um vasto intervalo de valores do pH da solução. Eles observaram a formação de complexos estáveis mesmo para cadeias poliméricas com carga de mesmo sinal da carga líquida da proteína (lado errado do ponto isoelétrico) [12, 13, 23, 24], e verificaram que a afinidade máxima ocorre em forças iônicas tais que o comprimento de Debye se aproxima do valor do raio da proteína. Esses resultados demonstram uma competição entre contribuições eletrostáticas repulsivas devido à carga líquida da proteína e contribuições atrativas decorrentes de uma alta densidade de carga local da proteína de sinal contrário a do polieletrólito, conhecidas como “*patches*” de cargas [23].

Motivados pelas novas observações empíricas, S. J. de Carvalho e colaboradores estudaram, por meio de simulações computacionais, a adsorção dirigida por interações eletrostáticas entre polieletrólitos flexíveis e nanopartículas *Janus* neutras

que apresentam hemisférios opostamente carregados, similares a grandes “patches” de cargas, tais como ocorrem na Albumina Bovina e a Antitrombina no ponto isoelétrico [25]. Neste trabalho, os autores avaliaram as condições críticas de adsorção em função do raio da partícula Janus, do comprimento da cadeia, da força iônica e da densidade de carga da partícula. Como resultado, obtiveram uma relação de escala entre a densidade de carga da partícula Janus de cada hemisfério e o inverso do comprimento de Debye κ , equivalente à equação 1.2, com o expoente a abaixo da unidade para baixa força iônica.

Os estudos acima foram de grande valia para a interpretação e entendimento das diferentes contribuições eletrostáticas na ligação das cadeia poliméricas em macromoléculas com distribuições simplificadas de carga. Como uma continuação natural, este trabalho tem como objetivo propor um modelo computacional mais detalhado que será aplicado para estudar a adsorção de polímeros em macromoléculas com distribuições arbitrárias de cargas, através de simulações de Monte Carlo. Para isso, investigaremos os efeitos da variação da concentração de sal e da distribuição de carga da macromolécula na adsorção na transição entre os estado adsorvido e dessorvido do polieletrólito.

Capítulo 2

OBJETIVOS

O objetivo geral deste trabalho é propor um modelo mais realístico que possibilite elucidar os princípios gerais da interação entre polieletrólitos e macromoléculas com distribuições heterogêneas de cargas, tendo por ênfase as condições críticas de adsorção. Visando atingir este objetivo, dividimos o trabalho em três etapas:

1. Implementar nos códigos computacionais já desenvolvidos pelo nosso grupo, novos potenciais de interação obtidos da solução da equação de Poisson-Boltzmann para uma distribuição arbitrária de carga da macromolécula;
2. Caracterizar a transição entre os estados adsorvido e dessorvido do polieletrólito na presença de uma macromolécula com distribuição de cargas dipolar e quadrupolar;
3. Estudar os efeitos da variação da força iônica da solução e da distribuição de cargas da macromolécula nas mudanças energéticas e estruturais da cadeia polimérica adsorvida.

Capítulo 3

METODOLOGIA

A complexidade de sistemas compostos por macromoléculas em solução, decorrente, entre outros fatores, do seu elevado número de partículas (íons de sal, contra-íons e moléculas do solvente) e da complexidade das interações envolvidas, torna o tratamento detalhado deste sistema custoso computacionalmente, demandando uma quantidade expressiva de tempo. Estes fatores tornam a utilização de modelos detalhados pouco indicados para serem aplicados neste trabalho, visto que foi necessário realizar uma quantidade elevada de simulações para diversos valores dos parâmetros do sistema.

Desta forma, com o intuito de estudar a adsorção de um polieletrólito em uma macromolécula com uma distribuição heterogênea de cargas, optou-se neste trabalho por uma abordagem numérica-computacional aplicada a um modelo simplificado, no qual a solução eletrolítica será tratada através da teoria de Debye-Huckel [8, 26, 27]; e será adotada uma geometria simplificada para a macromolécula (no presente caso, ela será representada por uma esfera).

Sendo assim, o método de Monte Carlo foi o método proposto para tratar o problema numericamente, dada sua eficiência na amostragem estatística de diferentes estados do sistema separados por barreiras de energéticas [28–30].

3.1 Modelo

O polímero foi modelado por uma cadeia semi-flexível formada por N_m esferas rígidas de raio R_m (monômeros), cada uma apresentando uma carga elementar positiva (e) em seu centro, as quais são mantidas conectadas por meio de um potencial

harmônico. A energia não eletrostática monômero–monômero é então dada por

$$U_m^r(r_{i,i+1}) = \frac{1}{2}k_r(r_{i,i+1} - r_0)^2, \quad (3.1)$$

sendo que k_r representa a constante elástica; r_0 é a distância de equilíbrio de centro a centro; e $r_{i,i+1}$ é a distância entre dois monômeros sucessivos.

As interações elétricas entre os monômeros do polímero foram tratadas por meio do potencial de Coulomb blindado, equação 60. A energia eletrostática monômero–monômero é então dada por

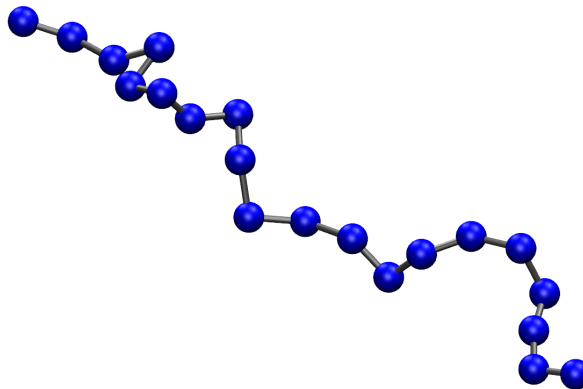
$$U_m^{el}(r_{ij}) = \begin{cases} \infty & , \quad r < 2R_m \\ \frac{z_i z_j e^2}{4\pi\epsilon_0\epsilon_s} \frac{\exp(-\kappa r_{ij})}{r_{ij}} & , \quad \text{caso contrario} \end{cases}, \quad (3.2)$$

onde z_i e z_j representam a valência do i -ésimo e do j -ésimo monômero; ϵ_0 e ϵ_s são, respectivamente, a permissividade elétrica do vácuo e a constante dielétrica da solução; r_{ij} é a distância de centro a centro entre dois monômeros quaisquer i e j ; e κ^{-1} é o comprimento de Debye [8, 31].

A macromolécula foi modelada com base no modelo proposto por Kirkwood [26], no qual consiste em uma cavidade esférica de raio b e constante dielétrica ϵ_m com uma distribuição arbitrária de cargas pontuais em seu interior, inserida em uma solução eletrolítica de constante dielétrica ϵ_s , como apresentado na Figura 3.1. Os íons da solução eletrolítica serão tratados por meio da teoria de Debye Huckel.

O potencial eletrostático no interior da macromolécula, V_{int} , dado na posição

Figura 3.1: Representação ilustrativa do modelo adaptada para a cadeia polimérica. Na imagem os monômeros carregados positivamente, e , são representados pelas esferas azuis e as ligações dadas pelo potencial harmônico em cinza.



Fonte: Elaborada pelo autor.

$\vec{r} = (r, \theta, \phi)$, é composto por uma contribuição gerada pela distribuição interna de cargas e uma contribuição dada pelas cargas existentes na solução eletrostática:

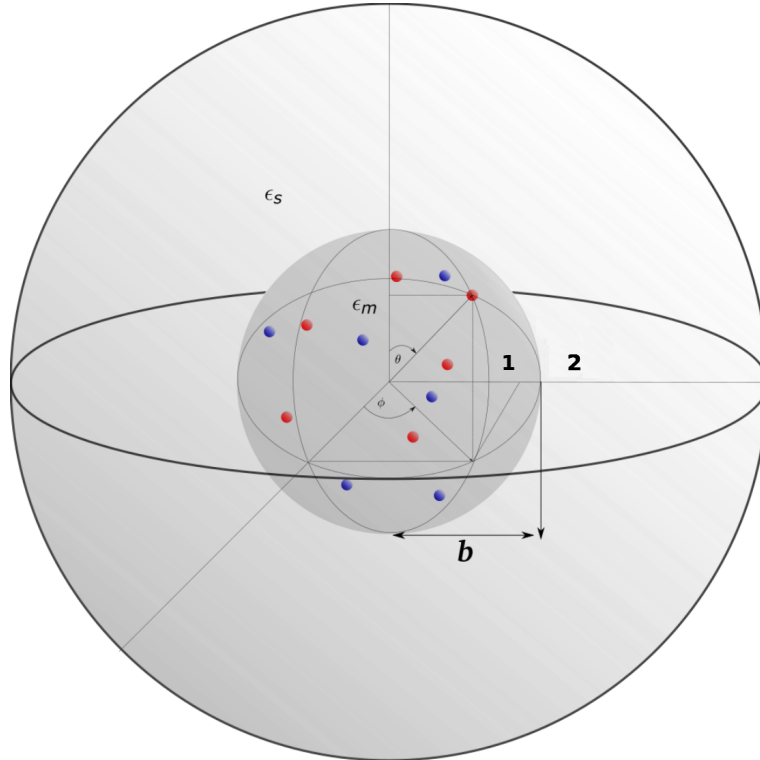
$$V_{int}(r, \theta, \phi) = \sum_{k=1}^{N_C} \frac{Z_k e}{4\pi\epsilon_0\epsilon_m} \frac{1}{|\vec{r} - \vec{r}_k|} + \sum_{n=0}^{\infty} \sum_{m=-n}^n A_{nm} r^n Y_{nm}(\theta, \phi) \text{ se } r \leq b, \quad (3.3)$$

sendo que Z_k e $\vec{r}_k = (r_k, \theta_k, \phi_k)$ correspondem à valência e ao vetor posição da k -ésima carga pontual, $Y_{nm}(\theta, \phi)$ são os esféricos harmônicos; e as constantes A_{nm} serão obtidas com a aplicação das condições de contorno apropriadas. Para utilizarmos as propriedades das funções especiais, o primeiro termo da equação 3.3 deve ser expandido em esféricos harmônicos:

$$\sum_{k=1}^{N_C} \frac{Z_k e}{4\pi\epsilon_0\epsilon_m} \frac{1}{|\vec{r} - \vec{r}_k|} = \sum_{n=0}^{\infty} \sum_{m=-n}^n \sum_{k=1}^{N_C} \frac{Z_k e}{\epsilon_0\epsilon_m r^{n+1}} \frac{1}{(2n+1)} Y_{nm}(\theta, \phi) Y_{nm}^*(\theta_k, \phi_k). \quad (3.4)$$

Já o potencial eletrostático na região externa à macromolécula é dado pela

Figura 3.2: Representação ilustrativa do modelo da macromolécula. Região 1, macromolécula de raio b e constante dielétrica ϵ_m com distribuição heterogênea de cargas pontuais representadas pelas esferas azuis (cargas positivas) e vermelhas (cargas negativas). Região 2, solução eletrolítica.



Fonte: Elaborada pelo autor.

solução da equação linearizada de Poisson-Boltzmann, $\nabla^2 V_{ext} - \kappa^2 V_{ext} = 0$ [8, 26, 27, 32]:

$$V_{ext}(r, \theta, \phi) = \sum_{n=0}^{\infty} \sum_{m=-n}^n B_{nm} k_n(\kappa r) Y_{nm}(\theta, \phi) \quad \text{se } r > b, \quad (3.5)$$

em que $k_n(x)$ são as funções esféricas modificadas de Bessel do segundo tipo; e as constantes B_{nm} serão obtidas pelas condições de contorno apropriadas.

Aplicando as condições de contorno da continuidade do potencial elétrico e do vetor deslocamento elétrico sobre a interface macromolécula-solução ($r = b$) nas equações 3.3 e 3.5, encontraram-se os valores das constante A_{nm} e B_{nm} [33]. Assim, o potencial externo à macromolécula pode ser reescrito por

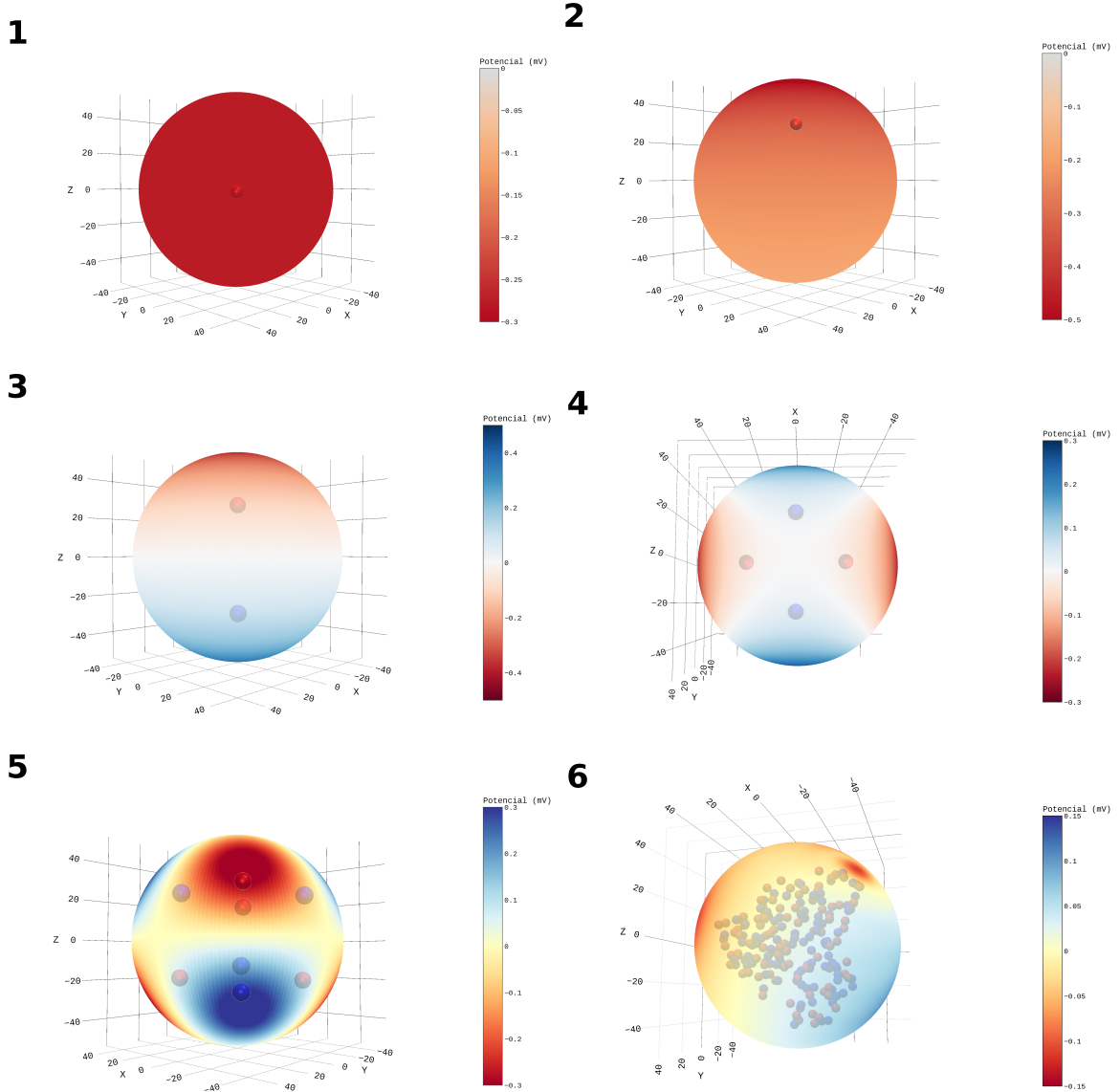
$$V_{ext}(r, \theta, \phi) = \sum_{n=0}^{\infty} \sum_{k=1}^{N_C} \frac{Z_k e}{4\pi\epsilon_0} \frac{(2n+1)}{b^{n+1}} \frac{r_k^n k_n(\kappa r)}{[\epsilon_m n k_n(\kappa b) - \epsilon_s \kappa b k'_n(\kappa b)]} P_n(\cos \theta_{rk}), \quad (3.6)$$

onde ϵ_m é a constante dielétrica da macromolécula; ϵ_s é a constante dielétrica da solução; e $P_n(\cos \theta)$ são polinômios de Legendre, em que $\cos \theta_{rk} = \cos \theta \cos \theta_k + \sin \theta \sin \theta_k \cos(\phi - \phi_k)$.

A equação 3.6 é um modelo de potencial geral, que pode ser utilizado para calcular o potencial eletrostático decorrente de diferentes distribuições de cargas, desde de uma única carga na origem da macromolécula, até para uma distribuição complexa de cargas dada pela estrutura de uma proteína. Para evidenciar a heterogeneidade do potencial eletrostático proposto acima (equação 3.6), o potencial foi calculado sobre a superfície de 6 macromoléculas com diferentes configurações de cargas. O potencial eletrostático na superfície das macromoléculas estão demonstrados na Figura 3.3 abaixo. Com exceção da imagem 6, proteína BSA, as demais macromoléculas apresentam raio igual 20 Å em concentração de sal igual a $C_s = 1\text{mM}$. 1) Carga $Z = -10e$ na origem; 2) Carga $Z = -10e$ deslocada da origem; 3) Dipolo cargas $Z = \pm 10e$; 4) Quadropolo $Z = \pm 10$; 5) Octopolo $Z = \pm 10$; e 6) Distribuição de cargas do domínio alfa da proteína BSA, raio igual a 55 Å com 97 resíduos carregados positivamente e 97 resíduos carregados negativamente, as posições utilizadas foram extraídas dos carbonos alfa dos resíduos carregados do PDB (1ao6.pdb) no ponto isoelétrico.

Neste trabalho, assumiu-se que $\epsilon_m = \epsilon_s$. Adotando-se esta simplificação, o efeito de cargas imagens gerado pela descontinuidade dielétrica é desprezado. Desta forma, podemos escrever a energia de interação eletrostática dada entre um monômero i do polieletrólito e macromolécula como,

Figura 3.3: Representação ilustrativa do potencial calculado na superfícies de macromoléculas com distribuições heterogênea de cargas a partir do potencial descrito no modelo. As cores azul e vermelho representam, respectivamente, os potenciais eletrostáticos positivo e negativo. Potencial para as distribuições de 1) Carga $Z = -10$ fixada na origem; 2) Carga $Z = -10$ deslocada da origem; 3) Dipolo com cargas $Z = \pm 10$; 4) Quadripolo com cargas $Z = \pm 10$; 5) Octopolo com cargas $Z = \pm 10$; 6) Distribuição de cargas do domínio alfa da proteínas BSA, retirado do PDB (1ao6.pdb). As distribuições heterogêneas de cargas pontuais foram representadas pelas esferas azuis (cargas positivas) e vermelhas (cargas negativas), as coordenadas estão indicadas no apêndice 5.



Fonte: Elaborada pelo autor.

$$U_c^{el}(r_i, \theta_i, \phi_i) = \begin{cases} \infty & , \quad r < b + R_m \\ z_i e V_{ext}(r_i, \theta_i, \phi_i) & , \quad \text{caso contrario} \end{cases} \quad (3.7)$$

Como apresentado nas seções acima, o modelo apresenta contribuições energéticas de carácter eletrostático e não eletrostático que contribuem para energia total do sistema em uma determinada configuração, que será utilizada no método de Monte Carlo, discutido no capítulo a seguir. Uma vez definidos todos os termos energéticos, podemos escrever a energia total como

$$U^{total} = \sum_{i=1}^{N_m-1} U_m^r(r_{i,i+1}) + \sum_{i=1}^{N_m} U_c^{el}(r_i, \theta_i, \phi_i) + \sum_{i=1}^{N_m-1} \sum_{j=i+1}^{N_m} U_m^{el}(r_{ij}). \quad (3.8)$$

O primeiro termo da equação 3.8 refere-se à contribuição energética de carácter não eletrostático, dado pela interação harmônica que mantém os monômeros do polímeros conectados (equação 3.1); os segundo e terceiro termos são de carácter eletrostático que se referem as interações monômero-macromolécula (equação 3.7) e monômero-monômero da cadeia polimérica (equação 3.2), respectivamente.

3.2 Abordagem Computacional

3.2.1 Método de Monte Carlo Metrópolis

O método de Monte Carlo Metrópolis tem por objetivo calcular os valores médios das grandezas de interesse do sistema simulado por meio da média de uma amostragem [34, 35]. Sendo assim, o algoritmo é desenvolvido de modo a se obter uma amostra que siga a distribuição de Boltzmann.

A vantagem da aplicação do algoritmo de Metrópolis está no fato dele não levar em conta as probabilidade das configurações em si, dispensando a necessidade de uma integração da densidade de probabilidade sobre todo um espaço de configurações, mas sim a razão entre elas. Esta razão entre duas probabilidade pode ser calculada sem a necessidade das anteriores. Assim, para duas configurações m e n , com probabilidades P_m e P_n , a razão entre elas pode ser escrito, como:

$$\frac{P_n}{P_m} = \frac{\exp\left(-\frac{U_n}{k_B T}\right)}{\exp\left(-\frac{U_m}{k_B T}\right)} = \exp\left(-\frac{\Delta U}{k_B T}\right), \quad (3.9)$$

onde U_m e U_n são as energia totais das configurações n e m ; T é a temperatura e k_B é a constante Boltzmann. Por meio das ideias discutidas acima o algoritmo de Metrópolis pode ser implementado obedecendo os seguintes passos:

1. Gera-se uma configuração aleatória inicial. Atribui-se o índice i a esta

configuração e calcula-se a energia U_i^{total} ;

2. Gera-se uma nova configuração tentativa e atribui-se a ela o índice f , resultado de movimentos realizados aleatoriamente na configuração i , e calcula-se a energia U_f^{total} ;

3. Calcula-se a variação da energia total entre as configurações i e f , $\Delta U^{total} = U_f^{total} - U_i^{total}$;

4. Se $\Delta U^{total} \leq 0$ aceita-se a nova configuração tentativa f e atribui a ela o índice i ;

5. Se $\Delta U^{total} > 0$, gera-se um número aleatório ς no intervalo de 0 a 1 e calcula-se o valor da distribuição de Boltzmann, $\exp\left(-\frac{\Delta U^{total}}{kT}\right)$;

6. Se $\exp\left(-\frac{\Delta U^{total}}{kT}\right) > \varsigma$, a configuração tentativa f é aceita e atribui-se o índice i a ela. Caso contrário a configuração inicial i é mantida e descarta-se f ;

7. Refazer os passos de 1 a 6 para todos os passos de MC.

3.2.2 Código Computacional

O código computacional utilizado neste estudo é uma versão modificada do código desenvolvido por nosso grupo [11, 36, 37], no qual foi implementado o método de Monte Carlo associado ao algoritmo de Metrópolis no ensemble canônico (N,V,T) [31, 34, 38]. Para este trabalho, o potencial de Coulomb blindado, que era usado nos cálculos das interações entre o macroíon e os monômeros do polímero, foi substituído por um novo potencial mais geral que considera distribuições heterogêneas de carga. Este novo potencial, equação 3.6, é escrito em função dos polinômios de Legendre e das funções de Bessel esféricas modificadas de segunda ordem. O código foi desenvolvido em linguagem Fortran. As rotinas utilizadas para o cálculo dos termos dos polinômios de Legendre e das funções de Bessel esféricas modificadas de segunda ordem foram obtidas na referencia [39]. Para verificar a eficiência dessas rotinas, foi realizada uma série de testes e notou-se que são necessários somente os dez primeiros termos para se obter a convergência do potencial eletrostático (equação 3.6).

As simulações são divididas em duas etapas: Equilibração e Produção. A etapa de equilibração tem como objetivo levar o sistema ao estado de equilíbrio, no qual as propriedades física médias calculadas são descorrelacionadas da configuração inicial do sistema e flutuam em torno de uma média. Neste estudo, utilizamos a energia total do sistema (equação 3.8) como parâmetro de referência para o término da etapa de

equilíbrio, que será encerrada quando a energia total flutuar em torno de uma média constante. A etapa de produção tem como objetivo armazenar os valores das grandezas físicas de interesses do sistema a cada passo do Método de Monte Carlo para, no final da simulação, obter os valores médios. Na produção, as configurações geradas devem ser estatisticamente independentes uma das outras, para isso será necessário solicitar ao usuário o número de movimentos necessários para descorrelacionar as configurações.

As simulações foram realizadas com $1,0 \times 10^6$ passos de Monte Carlo na etapa de equilíbrio e $1,0 \times 10^6$ passos de Monte Carlo na etapa de produção, com 10^3 número de configurações independentes em cada passo.

3.2.3 Descrição do funcionamento do código

Inicialmente o código solicitará os parâmetros referentes ao modelo e também a simulação. A tabela 3.1 apresenta os dados necessários para a execução do programa.

Tabela 3.1: Dados solicitados pelo código no início da simulação.

Parâmetros iniciais	
Modelo	Simulação
Raio da célula (R_C)	Número de passos para equilíbrio
Número de monômeros (N_m)	Número de passos para produção
Raio dos Monômeros (R_m)	Número de configurações independentes
Constante de Mola Linear ($kT/\text{\AA}^2$)	Semente do gerador de número aleatório
Separação de Equilíbrio dos Monômeros ($\text{\AA}$)	Deslocamento máximo dos monômeros
Constante de Mola Angular (kT/rad^2)	Deslocamento máximo da cadeia
Ângulo de Equilíbrio dos Monômeros (rad)	Ângulo máximo para pivotar
Concentração de Sal (Molar)	Probabilidade de deslocar um monômero
Temperatura (K)	Probabilidade de deslocar a cadeia
pH da Solução	Probabilidade de pivotar a cadeia
Raio da Proteína (b)	Ler posição inicial da simulação anterior
Número de resíduos da proteína (N_C)	Executar Produção
Valor da constante dielétrica da solução (ϵ_s)	Número de termos para Função de Bessel (n)
Valor da constante dielétrica da proteína (ϵ_m)	

Fonte: Adaptado da referência [21]

Por meio dos parâmetros indicados, o programa calcula valor inverso do comprimento de Debye (κ) e as funções esféricas modificadas de Bessel de segunda ordem para os termos dependentes do raio da macromolécula b e dos valores de κ ,

que serão aplicadas nos cálculos dos potenciais de interação ao longo da simulação. Como simplificação, adotamos que todos os monômeros do polímero e as cargas da macromolécula do sistema são monovalentes, ou seja, apresentam valência com valores $z = \pm 1$.

Em seguida, o programa posiciona as cargas da macromolécula, obtendo as posições a partir de um arquivo de *input* disponibilizado no início da simulação, que contém as coordenadas das posições dos carbonos alfa dos resíduos da proteína extraídas do PDB ou geradas pelo usuário.

As posições iniciais dos monômeros da cadeia podem ser obtidas por duas maneiras diferentes. As posições podem ser geradas aleatoriamente, ou quando solicitado pelo usuário, o programa importa a última configuração gerada no termino da simulação anterior.

Em cada passo da simulação são realizados três tipos de movimentos para gerar as configurações do sistema.

1. Translação Individual de um monômero: Neste movimento, um monômero da cadeia é escolhido aleatoriamente e pequenos deslocamentos $(\Delta X, \Delta Y, \Delta Z)$ definidos aleatoriamente são acrescidos em suas coordenadas (X, Y, Z) .

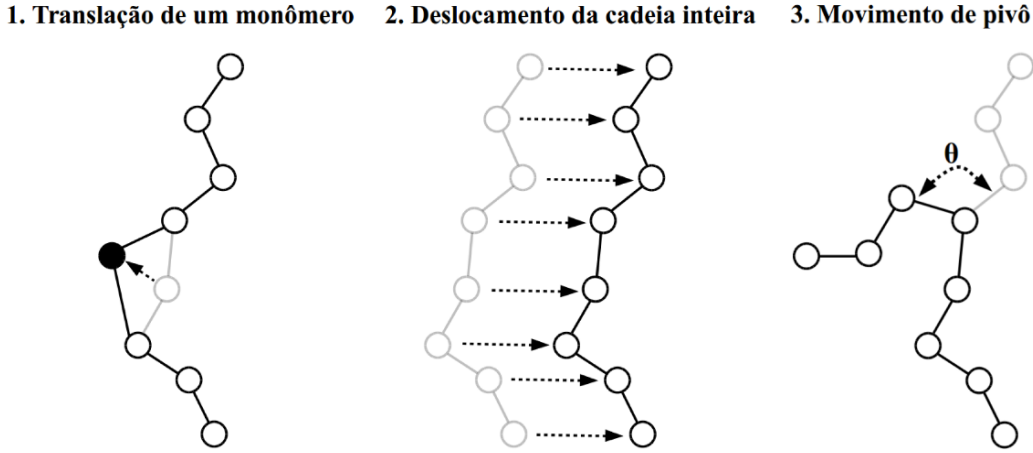
2. Translação da cadeia inteira: Quando este movimento é executado, as coordenadas (X, Y, Z) de todos os monômeros da cadeia são acrescidas de um deslocamento $(\Delta X, \Delta Y, \Delta Z)$.

3. Movimento de pivô: Um monômero da cadeia, um eixo do plano cartesiano e um ângulo são escolhidos aleatoriamente. Em seguida, aplica-se sobre a menor parte da cadeia a partir deste monômero, uma rotação ao redor do eixo escolhido.

A Figura 3.4 apresenta uma representação esquemática de cada um dos movimentos descritos.

A seleção de cada movimento é feita pelo algoritmo no início de cada passo de Monte Carlo, gerando um número aleatório ξ_1 . Caso ξ_1 seja menor que a probabilidade atribuída ao movimento de translação do monômero (movimento 1), o movimento é executado. Caso contrário, o programa compara ξ_1 com a soma das probabilidades dos movimentos de translação da cadeia (movimento 2) e do movimento de translação do monômero. Se ele for menor, o movimento 2 é executado. Senão, ξ_1 é comparado com a soma das probabilidades da execução dos movimentos de translação da cadeia e do movimento de Pivô (movimento 3); se ele for menor, o movimento 3 é executado.

Figura 3.4: Representação esquemática dos possíveis movimentos aplicados para gerar as novas configurações do sistema durante a simulação. 1), Translação de um monômero. 2) Translação da cadeia inteira. 3) Movimento de Pivô.



Fonte: Adaptado da referência [21]

3.2.4 Cálculo das Propriedades Médias

Para obtermos as grandezas termodinâmicas de interesse do sistema, aplicaremos as ferramentas disponibilizadas pela física estatística. Deste modo, as médias das grandezas de interesse para o estudo do sistema serão expressas por [31, 38, 40]:

$$\langle A \rangle = \frac{\sum_i A_i}{N_{MC}}, \quad (3.10)$$

sendo que A é a grandeza de interesse; N_{MC} é o número de passos realizados pelo Método de Monte Carlo.

Raio de giro quadrático médio

O raio de giro, R_G , constitui-se um importante parâmetro, pois possibilita obter uma estimativa do tamanho tridimensional do polímero. Além de ser uma propriedade usualmente obtida experimentalmente [41].

O raio de giro quadrático médio é definido matematicamente como a distância média dos monômeros em relação ao centro de massa da cadeia. Matematicamente definido como:

$$\langle R_G^2 \rangle = \frac{1}{N_m} \left\langle \sum_{i=1}^{N_m} (r_{CM} - r_i)^2 \right\rangle, \quad (3.11)$$

onde r_i é a posição do monômero i ; e r_{CM} é o centro de massa da cadeia polimérica, definida por:

$$r_{CM} = \frac{1}{N_m} \sum_{i=1}^{N_m} r_i. \quad (3.12)$$

Número médio de monômeros

O cálculo do número médio de monômeros será realizado por meio da divisão da célula de simulação em fatias, centradas com a origem do sistema e com larguras $\tau = 1 \text{ \AA}$. O número médio de monômeros no interior de cada fatia é obtido pela equação 3.10 ao término de cada simulação.

Fração adsorvida do polímero

O valor da fração adsorvida da cadeia será obtido matematicamente por meio da razão entre o número de vezes em que a energia média de ligação $\langle E_B \rangle$ for inferior a $-k_B T$ e N_{MC} , número de passos realizados pelo Método de Monte Carlo, realizada ao término de cada simulação.

3.2.5 Informações dos parâmetros utilizados nas simulações

Todas as simulações foram realizadas para um polímero de $N_m = 20$ monômeros na presença de uma macromolécula de raio $b = 20 \text{ \AA}$, inseridos em uma caixa de simulação esférica de raio $R_C = 1582,6 \text{ \AA}$, raio suficientemente grande para que a cadeia não tenha restrições conformacionais. Portanto, as interações eletrostáticas entre os monômeros foram as únicas interações responsáveis pela flexibilidade da cadeia. Em todas as simulações utilizamos os parâmetros constantes do polímero $r_0 = 7,5 \text{ \AA}$, $R_m = 2 \text{ \AA}$, $k_r = 2,45 k_B T$.

Capítulo 4

RESULTADOS

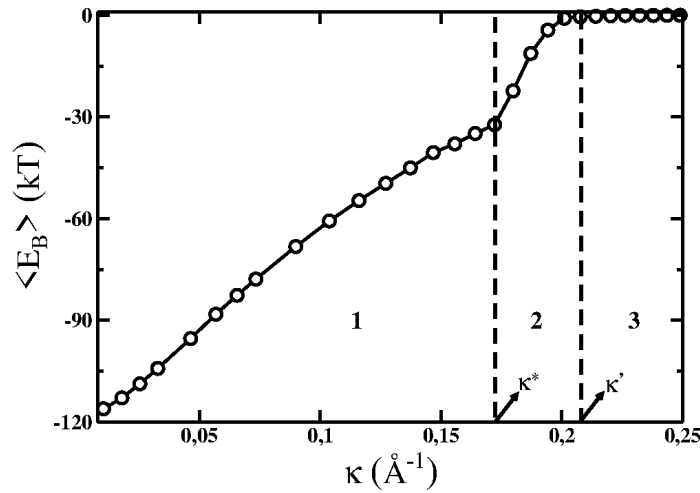
Nesta seção investigaremos a influência da concentração de sal e da variação da distribuição de carga da macromolécula na adsorção de um polieletrólito, por meio do comportamento da energia de ligação e da conformação da cadeia polimérica adsorvida. Para isso, iniciaremos com uma macromolécula eletricamente neutra, mas com diferentes distribuições de carga (dipolar e quadrupolar). Em seguida, modificaremos a distribuição dipolar, variando o valor de uma de suas cargas, de forma que a macromolécula apresente uma carga líquida positiva.

4.1 Efeito da variação da concentração de sal

Iniciaremos as discussões analisando o comportamento da energia de ligação média, $\langle E_B \rangle$, em função do inverso do comprimento de Debye, κ , para o polímero formado por $N_m = 20$ monômeros na presença de um dipolo com cargas $Z = \pm 30$. As cargas do dipolo, positivas e negativas, foram posicionadas nas coordenadas $(10, 0, 0)$ e $(-10, 0, 0)$, respectivamente, formando uma macromolécula com carga líquida igual a zero e com momento de dipolo permanente. Neste trabalho, simulamos macromoléculas com momentos de dipolos no intervalo entre 969,6 D a 12.606,0 D , faixa de valores que compreende os momentos de dipolo de proteínas tais como o da *Carboxypeptidase A*, 637 D , e do vírus *Hemagglutinin Influenza*, 7271 D [42, 43].

Com base na Figura 4.1 e nas configurações representadas na Figura 4.2, constatamos que para os menores valores de κ (região 1 do gráfico), o polímero encontra-se adsorvido sobre a região superficial da macromolécula com potencial eletrostático negativo, estado caracterizado pelos significativos valores negativos da energia de ligação média, $\langle E_B \rangle$. Nesta condição de baixa concentração de sal, as restrições dos graus

Figura 4.1: Energia de ligação média, $\langle E_B \rangle$, em função do inverso do comprimento de Debye (κ). A curva apresenta os resultados da simulação de um polieletrólito formado por 20 monômeros (cada um com uma carga elementar central $Z_m = e$) na presença de um dipolo com cargas $Z = \pm 30$, posicionadas nas coordenadas $(10, 0, 0)$ e $(-10, 0, 0)$. A região 1 apresenta os valores de κ para os quais o polímero apresenta-se no estado adsorvido. A região 2, delimitada por $\kappa^* = 0,172 \text{ \AA}^{-1}$ e $\kappa' = 0,207 \text{ \AA}^{-1}$, apresenta o intervalo de κ em que o polímero apresenta-se em coexistência entre os estados adsorvido-dessorvido. A região 3 corresponde aos valores de κ para os quais o polímero apresenta-se somente no estado dessorvido.



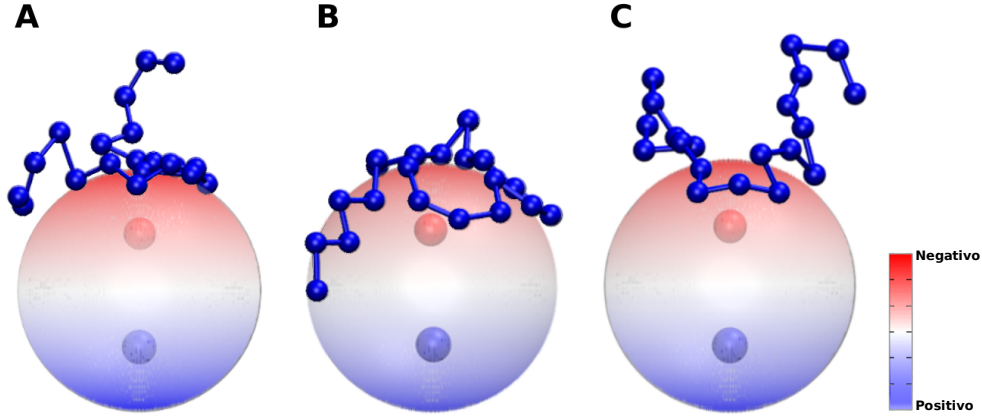
Fonte: Elaborada pelo autor.

de liberdade conformacionais e as perdas entrópicas da cadeia devidas à adsorção são compensadas pelo aumento da energia eletrostática atrativa.

Com o incremento dos valores de κ e, conseqüentemente, como o aumento da blindagem eletrostática, a energia de ligação média apresentou um crescimento suave (região 1) até $\kappa = 0,172 \text{ \AA}^{-1}$, valor que chamaremos de κ^* , como destacado na Figura 4.1. A partir de κ^* , a energia de ligação média cresce de forma abrupta até κ' , valor de κ em que $\langle E_B \rangle \approx 0$ (valor que delimita o fim da região 2 e início da região 3), desviando-se do padrão anterior do comportamento da energia. Estudos anteriores abordando a adsorção de polímero em superfícies homogeneamente carregadas [9, 37] indicaram que o aumento da força iônica no intervalo entre κ^* e κ' promove a coexistência entre os estados adsorvido e dessorvido do polímero. A partir de κ' o polímero encontra-se somente no estado livre (região 3).

Na Figura 4.3(A), que apresenta a energia de ligação E_B para concentração de sal igual a 300 mM ($\kappa = 0,179 \text{ \AA}^{-1}$), ou seja, em $\kappa^* < \kappa < \kappa'$, podemos observar que o comportamento da energia de ligação está associado a coexistência de estados

Figura 4.2: Configurações geradas pela simulação para um polímero com $N_m = 20$ monômeros, na presença de um dipolo com carga igual a $Z = \pm 30$, posicionadas nas coordenadas $(10, 0, 0)$ e $(-10, 0, 0)$, para três valores de κ : A) $\kappa = 0,01 \text{ \AA}^{-1}$ (1 mM), B) $\kappa = 0,09 \text{ \AA}^{-1}$ (75 mM) e c) $\kappa = 0,16 \text{ \AA}^{-1}$ (250 mM). A escala de cor ilustra o potencial eletrostático na superfície da esfera.

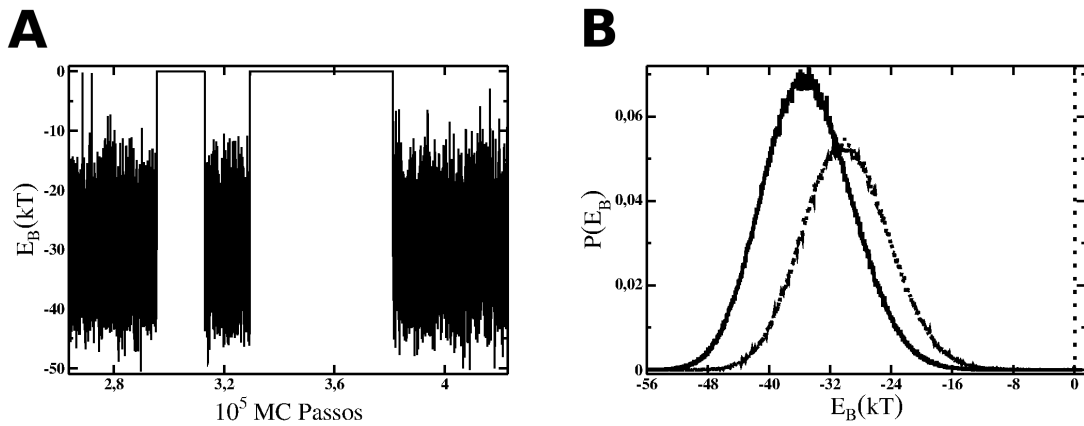


Fonte: Elaborada pelo autor.

adsorvidos e dessorvidos. O estado adsorvido é caracterizado por configurações que apresentam valores da energia de ligação E_B menores que $-k_B T$. Já o estado dessorvido é caracterizado por valores de energia de ligação próximos a zero ($E_B \approx 0$).

A Figura 4.3(B), que ilustra a probabilidade da energia de ligação E_B ,

Figura 4.3: (A) Energia de ligação E_B de um polímero com $N_m = 20$ monômeros na presença de uma macromolécula com distribuição de carga dada por um dipolo com $Z = \pm 30$, posicionadas nas coordenadas $(10, 0, 0)$ e $(-10, 0, 0)$, em uma concentração de sal igual 300 mM. (B) Distribuição da probabilidade $P(E_B)$ do sistema assumir uma energia E_B para um polieletrólito com $N_m = 20$ e uma macromolécula com distribuição de carga dada por um dipolo com $Z = \pm 30$ em concentrações de sal diferentes: 250 mM (linha sólida) e 300 mM (linha pontilhada).

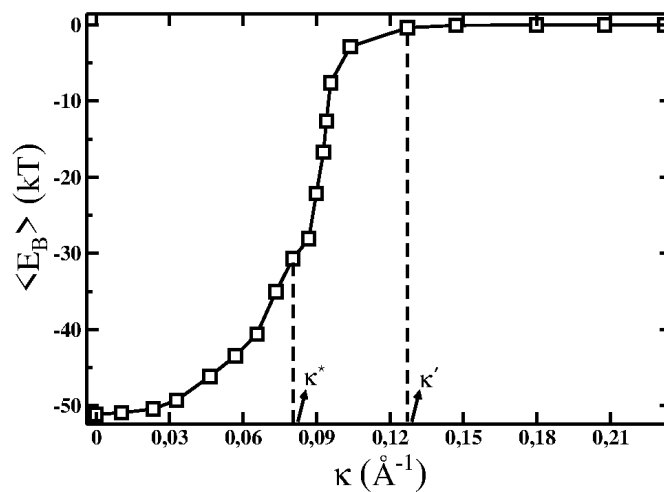


Fonte: Elaborada pelo autor.

apresenta o efeito da adição de sal sobre o número de configurações nos estados adsorvido e dessorvido. Na curva de linha cheia, obtida em concentração de sal $C_s = 250 \text{ mM}$ ($0.164 \text{ \AA}^{-1}$), é possível identificar que a configuração de energia de ligação E_B apresenta maior probabilidade próximo de $-38 kT$ (pico da curva). Além disso, o número de configurações com energia de ligação E_B nulas ou aproximadamente nulas ($E_B \approx 0$) é desprezível, podendo desconsiderá-los, confirmando que o polímero apresenta-se somente no estado adsorvido. Com o acréscimo de sal (curva representada pela linha pontilhada, obtida em uma concentração de sal igual a $C_s = 300 \text{ mM}$ ($0.179 \text{ \AA}^{-1}$), o efeito da blindagem eletrostática sobre a interação polímero-macromolécula resulta no aparecimento de populações com configurações dessorvidas ($E_B \approx 0$).

A coexistência dos estados indicada pela descontinuidade observada na Figura 4.3 (A), característica de uma transição de fase de primeira ordem, está associada a uma competição entre as componentes energética e entrópica da energia livre. Estudos abordando a adsorção de polímeros em superfícies homogeneamente carregadas apontaram que a energia livre do sistema, no intervalo de κ^* a κ' , apresenta dois mínimos [9, 21]. Um desses mínimos corresponde ao estado adsorvido e o outro ao estado dessorvido, separados por uma barreira energética [9].

Figura 4.4: Energia de ligação média, $\langle E_B \rangle$, em função do inverso do comprimento de Debye (κ). A curva apresenta os resultados da simulação de um polieletrólito formado por 20 monômeros (cada um com uma carga elementar central $Z_m = e$) na presença de uma macromolécula com distribuição de carga dada por um quadrupolo com cargas $Z = \pm 30$ (quadrados vazios). Os κ^* e κ' delimitam a região de coexistência entre os estados adsorvido e dessorvido do polieletrólito.



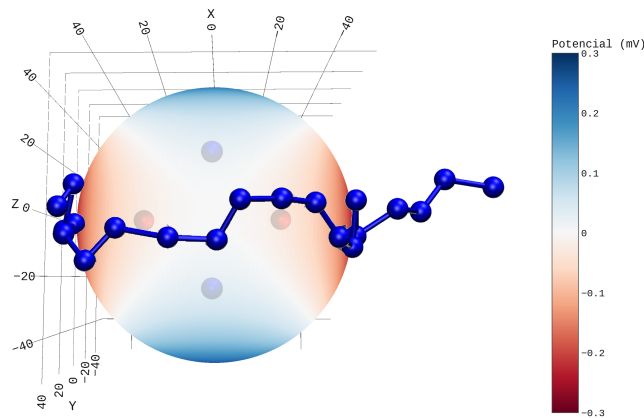
Fonte: Elaborada pelo autor.

O mesmo comportamento da energia de ligação, E_B , relacionada à transição de fase do polímero pode ser identificado quando alteramos a distribuição de carga da macromolécula para uma distribuição quadrupolar com cargas $Z = \pm 30$. As cargas negativas e positivas do quadrupolo foram posicionadas, respectivamente, nas coordenadas $(-10, 0, 0)$, $(10, 0, 0)$ e $(0, 10, 0)$, $(0, -10, 0)$, respectivamente, formando uma macromolécula com carga líquida igual a zero. No entanto, como apresentado na Figura 4.4, a transição acontece para valores menores de κ quando comparado com a macromolécula dipolar, indicando que a nova distribuição de cargas da macromolécula diminui a estabilidade da adsorção do polieletrólito sobre a macromolécula.

Outro aspecto importante que podemos constatar foi que a energia de ligação média, $\langle E_B \rangle$, para baixas concentrações de sal, $\kappa \approx 0$, não apresenta um decaimento acentuado, permanecendo próximo a um valor ($\langle E_B \rangle \approx -50 kT$), resultado bastante diferente quando comparado com a macromolécula com distribuição dipolar. Este fenômeno pode ser justificado pelo aumento da heterogeneidade dos valores do potencial eletrostático na superfície da macromolécula (vide Figura 3.3-4), decorrente do incremento do grau de complexidade da distribuição de cargas, que influencia diretamente nos valores líquidos do potencial na superfície, atenuando-os, devido a competição eletrostáticas entre as cargas de sinais contrários.

Além disso, a presença de regiões com potenciais positivos e negativos na superfície, observados na Figura 3.6-4, inviabiliza a compactação do polímero sobre a macromolécula. Consequentemente, o polieletrólito, mesmo adsorvido, assume maior

Figura 4.5: Configuração gerada pela simulação para um polímero com $N_m = 20$ monômeros, na presença de uma macromolécula de carga dada por um quadrupolo de cargas $Z = \pm 30$ e em $\kappa = 0.033 \text{ \AA}^{-1}$. A escala de cor ilustra o potencial eletrostático na superfície da esfera.



Fonte: Elaborada pelo autor.

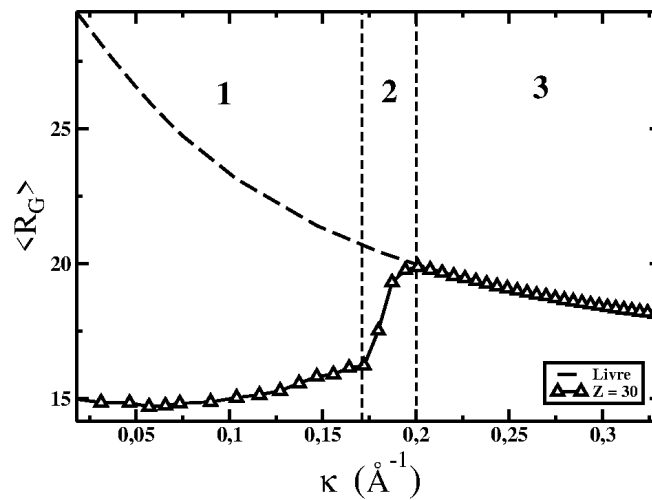
liberdade conformacional (vide Figura 4.5).

A transição de estados induzida pela concentração de sal também pode ser identificada pela variação do raio de giro quadrático médio do polímero. Na Figura 4.6, que ilustra o raio de giro quadrático médio, $\langle R_G \rangle$, podemos verificar três comportamentos distintos do $\langle R_G \rangle$ na curva que representa o polieletrólito na presença da macromolécula com distribuição dipolar de cargas (triângulos vazios).

Na Região (1), que compreende valores menores de κ (elevados valores negativos de $\langle E_B \rangle$), o raio de giro quadrático médio $\langle R_G \rangle$ apresenta valores menores que o raio da macromolécula. Este comportamento pode ser entendido pela distribuição de cargas que formam o dipolo, pois devido a presença das cargas positiva e negativa, temos uma região superficial energeticamente desfavorável e outra favorável para a adsorção dos monômeros do polímero. Como resultado, a área de contato da cadeia sobre a macromolécula é limitada [11, 25]. Mesmo que nem todos os monômeros estejam em contato e a cadeia forme pequenos *tails* a atração eletrostática decorrente da carga negativa do dipolo é forte o suficiente para manter todo o polímero nas proximidades dela, como observados nas configurações da Figura 4.2.

A região (2), corresponde a faixa de valores de κ em que ocorre a coexistência dos estados adsorvido e dessorvido, como discutido acima. Assim, podemos associar o crescimento dos valores do raio de giro quadrático médio $\langle R_G \rangle$ às novas con-

Figura 4.6: Raio de giro quadrático médio, $\langle R_G \rangle$, em função do inverso do comprimento de Debye κ para um polímero com $N_m = 20$ monômeros na presença de uma macromolécula com distribuição de carga dada por um dipolo com $Z = \pm 30$ (triângulos vazios) e livre em solução, ou seja, na ausência da macromolécula (linha tracejada).



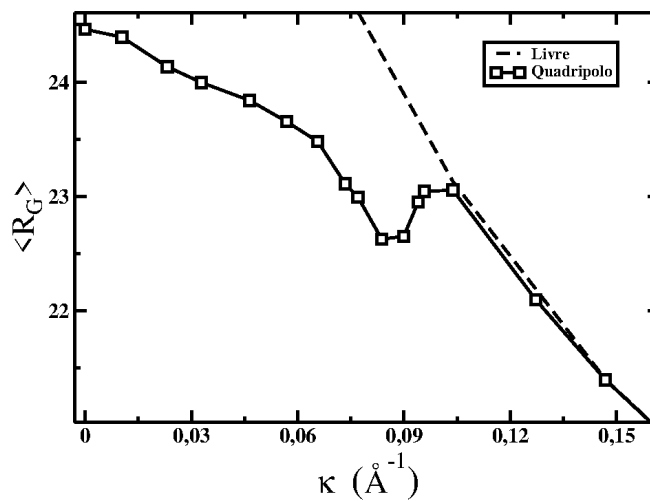
Fonte: Elaborada pelo autor.

figurações acessíveis a cadeia. Finalizando, é possível constatar que na região (3), a força iônica é suficientemente forte para blindar as interações eletrostáticas do polímero com as cargas do dipolo, impossibilitando a adsorção do polieletrólito, exibindo assim o comportamento de uma cadeia livre, ou seja, na ausência de uma macromolécula, como representado pela linha tracejada.

Para distribuição de carga quadrupolar Figura 4.7, podemos verificar que, em baixa força iônica (situação em que a cadeia encontra-se adsorvida sobre a macromolécula), o polieletrólito apresenta valores do raio de giro quadrático médio, $\langle R_G \rangle$, superiores ao raio da macromolécula (quadrados vazios). Tal fato é explicado pela formação de *tails* decorrente da repulsão eletrostática dos monômeros da cadeia adsorvida, como indicado na configuração apresentada na Figura 4.5.

Quando a macromolécula apresenta uma distribuição de cargas dada por um quadrupolo, além de atenuar $\langle E_B \rangle$, também aumenta-se a segmentação das regiões de potenciais na superfície, limitando-as espacialmente. Assim, os monômeros da cadeia ficam limitados a pequenas regiões favoráveis na superfície. Deste modo, as interações repulsivas entre os monômeros do polímero predominam, impedindo com que eles se aglomerem sobre a macromolécula, propiciando a formação de *tails*, como indicado na Figura 4.5. O leve acréscimo da força iônica permite que o polieletrólito assuma

Figura 4.7: Raio de giro quadrático médio, $\langle R_G \rangle$, em função do inverso do comprimento de Debye κ para um polímero de $N_m = 20$ monômeros na presença de uma macromolécula com distribuição de cargas dada por um quadrupolo com $Z = \pm 30$ (quadrados vazios) e livre livre em solução, ou seja, na ausência da macromolécula (linha tracejada).



Fonte: Elaborada pelo autor.

novas configurações mais compactas, como verificado na diminuição dos valores raio de $\langle R_G \rangle$ Figura 4.7. No entanto, esta diminuição é insuficiente para tornar o raio de giro quadrático médio inferiores ao raio da macromolécula.

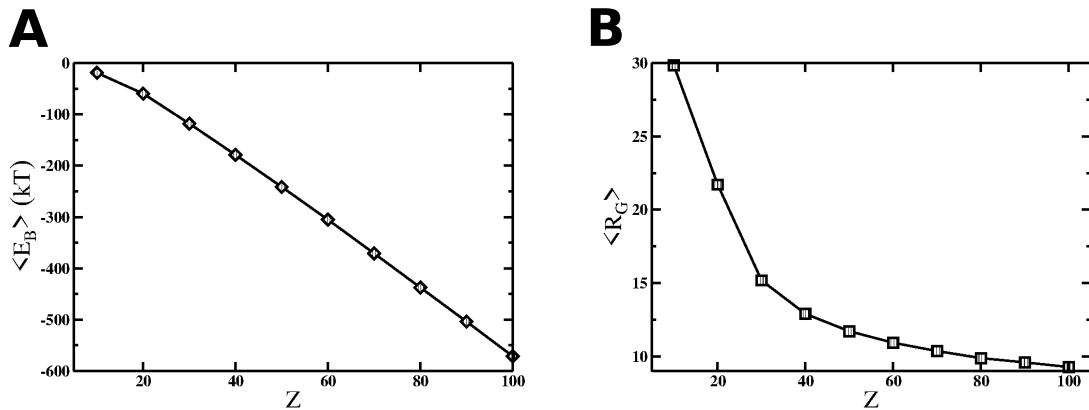
Já em valores mais elevados da força iônica, $0,085 < \kappa < 0,12$, o polímero apresenta coexistência de estados, o $\langle R_G \rangle$ forma um mínimo decorrente de uma leve compactação e logo em seguida volta a subir até assumir o comportamento de uma cadeia livre, assim como ilustrado no gráfico da Figura 4.4.

4.2 Efeito da variação da carga do dipolo

Os próximos resultados que analisaremos, depois de observado os efeitos da concentração de sal sobre o comportamento do polímero, serão os efeitos da variação das cargas Z que compõe a distribuição dipolar em uma concentração de sal fixa de $C_S = 10^{-4}$ M.

Baseando-se no gráfico da Figura 4.8(A), onde o polímero encontra-se somente no estado adsorvido (fração de configurações com polímero adsorvido igual a 1) para todos os valores de Z , constatamos o decrescimento dos valores da energia de ligação média, $\langle E_B \rangle$, com o aumento dos valores das cargas do dipolo, que correspondem ao comportamento aproximadamente linear característico do potencial de Debye-Huckel [9, 32].

Figura 4.8: (A) Energia de ligação média, $\langle E_B \rangle$, em função da carga Z do dipolo para um polímero com $N_m = 20$ monômeros em uma concentração de sal igual a $C_S = 10^{-4}$ M. (B) Raio de giro quadrático médio $\langle R_G \rangle$ em função da carga Z do dipolo para um polímero com $N_m = 20$ monômeros em uma concentração de sal igual a $C_S = 10^{-4}$ M.

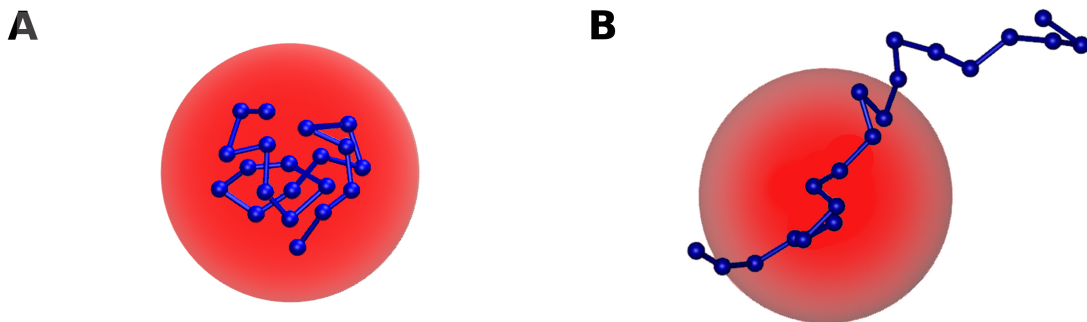


Fonte: Elaborada pelo autor.

O aumento da interação eletrostática atrativa entre os monômeros do polieletrólito e a carga negativa do dipolo com o acréscimo dos valores de Z é suficiente para compensar o efeito da repulsão eletrostática dos monômeros da cadeia polimérica e das perdas entrópicas quando ela está adsorvida, como mencionado na subseção 4.1. Desta forma, permite-se que mais monômeros da cadeia adsorvam sobre a superfície da macromolécula. Consequentemente, o valor do raio de giro quadrático médio $\langle R_G \rangle$ diminui devido ao acúmulo de monômeros sobre a área negativa do dipolo, como podemos observar no comportamento da curva do gráfico da Figura 4.8(B) e nas configurações exibidas na Figura 4.9.

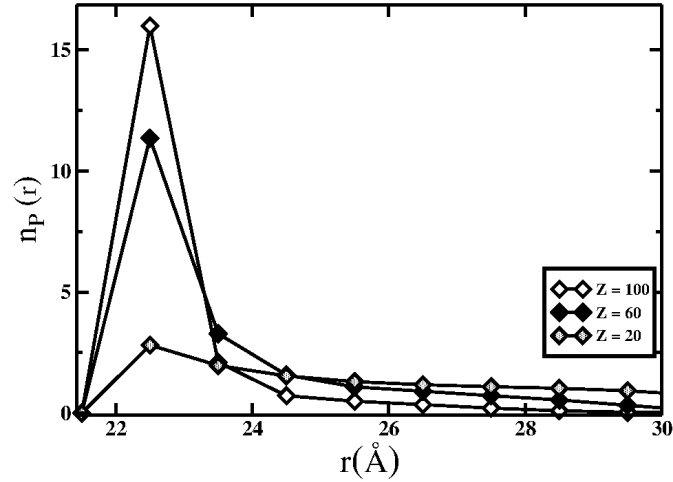
Podemos relacionar a diminuição dos valores de $\langle R_G \rangle$ da cadeia polimérica com a distribuição de monômeros na vizinhança da macromolécula, como apresentado no gráfico da Figura 4.10. Baseando-se nesta Figura, podemos constatar que os picos ficam próximos a 23 Å para os três casos. Contudo, quando comparamos os valores dos máximos apresentados nas curvas para as cargas Z do dipolo, $Z = \pm 20$ (losangos cinzas), $Z = \pm 60$ (losangos pretos) e $Z = \pm 100$ (losangos brancos) podemos ver uma diferença considerável. Essa diferença pode ser entendida pelo aumento do número de monômeros adsorvidos sobre a região superficial com potencial eletrostático negativo da macromolécula, que promove uma diminuição na energia de ligação média, $\langle E_B \rangle$, (Figura 4.8-A) e, consequentemente, uma diminuição nos valores do raio de giro quadrático médio, $\langle R_G \rangle$, como mencionado acima. Outro aspecto importante da Figura 4.10 que devemos dar atenção é a tendência de cada curva ir para zero, ou seja, as distâncias onde não se encontram monômeros. Para isso, basearemos nossa análise nas curvas dos dipolos com cargas $Z = 20$ e $Z = 100$. Para maiores valores de Z , mais monômeros da cadeia tendem a serem adsorvidos ou encontram-se nas vizinhanças da superfície da macromolécula. Desta forma, a curva que indica o número de monômeros

Figura 4.9: Configurações geradas pela simulação para um polímero com $N_m = 20$ monômeros, em uma concentração de sal igual a $10^{-4} M$ para uma macromolécula com duas distribuições dipolares de cargas diferentes: A) $Z = \pm 100$ e B) $Z = \pm 20$.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 4.10: Número de monômeros, n_P , em função da distância radial, r , ao centro da macromolécula para um polímero de $N_m = 20$ monômeros e na presença de uma macromolécula com distribuição de carga dada por um dipolo com $Z = 100$ (losangos branco), $Z = 60$ (losangos preto) e $Z = 20$ (losangos cinza).



Fonte: Elaborada pelo autor.

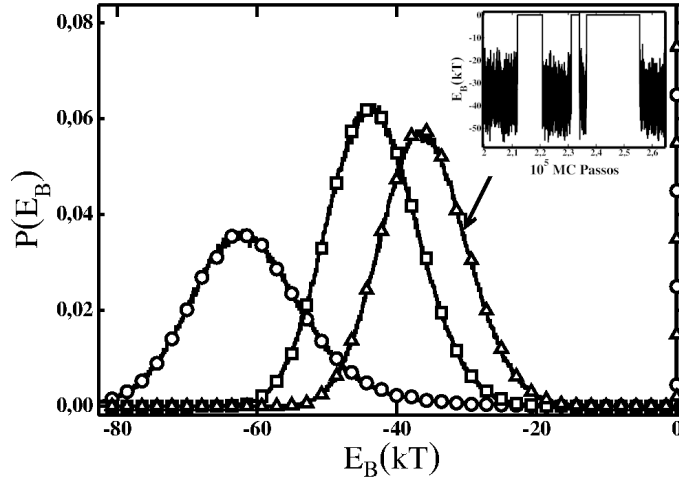
vai para zero em valores menores de r , sugerindo a compactação da cadeia, como observado na configuração da Figura 4.9-A obtida para $Z = 100$. Já no caso de valores menores de Z , a cadeia apresenta uma menor quantidade de monômeros adsorvidos, que resulta na formação de configurações com *tails*, como podemos observar na configuração da Figura 4.9-B obtida para $Z = 20$. Desta forma, mais monômeros podem ser observados a distâncias maiores da macromolécula.

4.2.1 Macromolécula com carga líquida

Fixamos os valores das cargas negativa e positiva do dipolo em $Z = -40$ e $Z = +82$, respectivamente, para assim investigarmos efeitos da carga líquida da macromolécula na adsorção do polieletrólito.

O gráfico da Figura 4.11, probabilidade da energia de ligação $P(E_B)$ em função da energia de ligação E_B , apresenta três concentrações distintas de sal. Em baixa concentração, $C_s = 17$ mM (círculos vazios) o polímero exibe coexistência entre os estados adsorvido-dessorvido, configurações com energia de ligação, $E_B(kT) < 0$, adsorvido, e $E_B = 0$, dessorvido. Com um acréscimo de sal, $C_s = 250$ mM (quadrado vazios) o polímero assume apenas configurações adsorvidas, $E_B < 0$, como identificado na curva. Adicionando mais sal, $C_s = 320$ mM (triângulos vazios) o polímero volta a

Figura 4.11: Distribuição da probabilidade, $P(E_B)$, do sistema assumir uma energia E_B para um polieletrólito com $N_m = 20$ e uma macromolécula com distribuição de carga dada por um dipolo com cargas $Z_- = 40$ e $Z_+ = 82$ em três concentrações de sal diferentes: $C_s = 17$ mM (círculo vazio), $C_s = 250$ mM (quadrado vazio) e $C_s = 320$ mM (triângulo vazio). O inserte apresenta a trajetória da energia de ligação, E_B , do polímero na concentração de sal igual $C_s = 320$ mM.



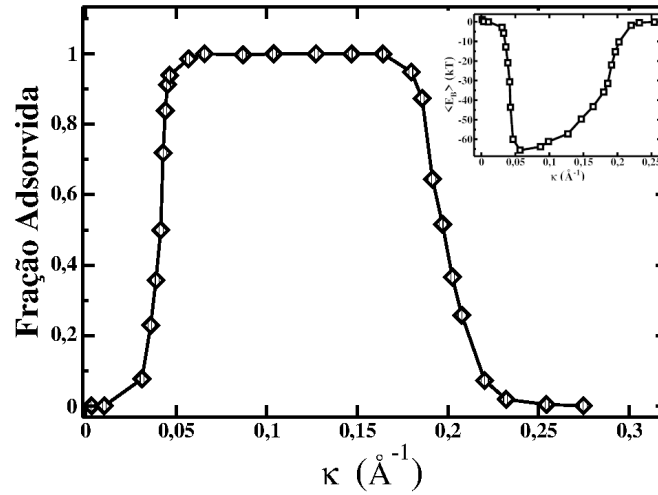
Fonte: Elaborada pelo autor.

apresentar coexistência de estados. No gráfico inserido, $E_B (kT)$ em função de passos de Monte Carlo para a concentração $C_s = 320$ mM, é possível constatar transições descontínuas entre os estados adsorvidos e dessorvidos [9, 25].

Com base na Figura 4.12, que ilustra a fração de configurações adsorvidas do polímero em função de κ , conseguimos ter um melhor entendimento dos resultados exibidos na Figura 4.11. Na Figura 4.12, podemos observar que, em baixas concentrações de sal, $\kappa \approx 0$, a cadeia encontra-se dessorvida, com a fração de configurações adsorvidas aproximadamente igual a zero. Com o aumento da concentração de sal, a cadeia sofre uma transição de fase, identificada pelo crescimento abrupto da fração de configurações adsorvidas e o decaimento da energia de ligação média (gráfico interno da Figura 4.12), até o polímero assumir apenas configurações adsorvidas, quando a fração de configurações adsorvidas do polímero é igual a 1. Nesta situação temos um intervalo de valores de κ para os quais o polímero encontra-se totalmente adsorvido e, conseqüentemente, a energia de ligação média para essas concentrações de sal é negativa, como verificado no gráfico interno na Figura 4.12. Por fim, com o crescente aumento de sal, o polieletrólito tem uma nova transição de fase e assume o comportamento de cadeia livre.

Os resultados descritos pelas Figuras 4.11 e 4.12 indicam que, a ocorrência

Figura 4.12: Fração de configurações adsorvidas do polímero em função de κ para um sistema formado por uma macromolécula com distribuição de carga dada por dipolo com cargas iguais a $Z_- = -40$ e $Z_+ = 82$ e um polímero formado por $N = 20$ monômeros. O gráfico interior apresenta a energia média de ligação durante a simulação.



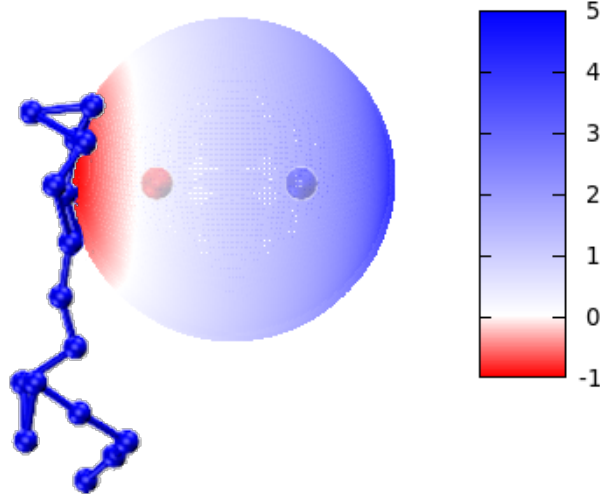
Fonte: Elaborada pelo autor.

da adsorção do polieletrólito induzida por sal. Para valores de kappa próximos de zero as contribuições eletrostáticas repulsivas de longo alcance são dominantes, impedindo com que a cadeia seja adsorvida.

Com a adição de sal, o aumento da blindagem eletrostática leva o sistema a uma transição do estado dessorvido para o estado adsorvido. Quando o comprimento de Debye se aproxima do raio da proteína ($\kappa \approx 0,05 \text{ \AA}^{-1}$), o polímero assume apenas configurações adsorvidas (vide Figura 4.12), indicando que o alcance da interação elétrica faz com que o polímero não seja afetado pela região positiva da macromolécula [12, 13, 23], mas apenas pelo potencial elétrico da região com alta densidade de carga negativa, chamada de “*patch*” de carga (vide Figura 4.13). Aumentando-se ainda mais a concentração de sal, as interações eletrostáticas atrativas e repulsivas monômero-macromolécula são totalmente blindadas e, conseqüentemente, o polímero permanece livre em solução (vide gráfico interno na Figura 4.12).

A constatação do estado adsorvido do polímero em uma macromolécula com carga líquida de mesmo sinal configura-se em um resultado importante, pois comportamentos semelhantes foram observados experimentalmente, por P. L. Dubin e colaboradores, na formação de complexos entre cadeias poliméricas e proteínas com carga líquida com mesmo sinal dos polieletrólitos. Assim, como a explicação apresentada

Figura 4.13: Configuração gerada pela simulação para um polímero com $N_m = 20$ monômeros, na presença de uma macromolécula de carga dada por um dipolo de cargas $Z_- = 40$ e $Z_+ = 82$. A escala de cor ilustra o potencial eletrostático na superfície da esfera (mV).



Fonte: Elaborada pelo autor.

por P. L. Dubin para este fenômeno [12], podemos entender os resultados obtidos nas simulações através da competição entre as contribuições eletrostáticas repulsivas, devido à carga líquida positiva da proteína, e as de ordem mais alta decorrentes das interações atrativas da carga negativa, sugerindo uma interpretação para a formação dos complexos por meio dos “patches” de cargas.

4.3 Condição crítica de adsorção

Nesta seção, investigaremos as condições críticas referentes à adsorção da cadeia polimérica. Para realizar tal tarefa, foram realizadas simulações onde fixamos os valores da carga Z do dipolo e variamos as concentrações de sal com o intuito de encontrar um valor de κ_c (kappa crítico), que corresponde à concentração de sal onde a fração de configurações adsorvida da cadeia seja igual a 0,5.

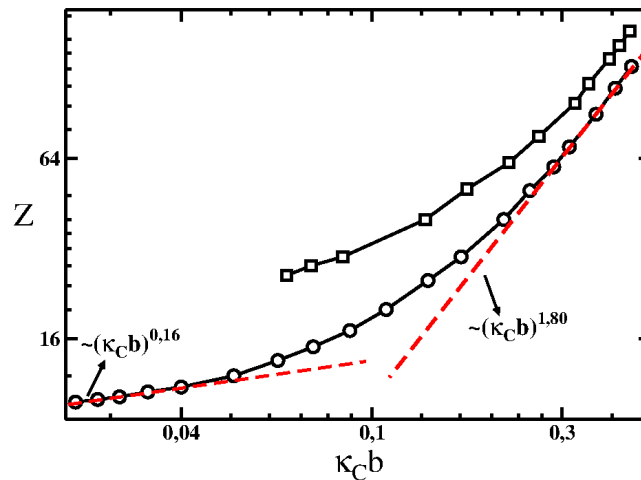
Estudos analíticos apontaram que o valor do expoente a , obtido por meio da relação de escala descrita pela Eq. 1.2, na situação em que $\kappa b \ll 1$, deve ser aproximadamente igual a 1; já para o caso de $\kappa b \gg 1$, o valor do expoente a é aproximadamente 3. Deve-se destacar que esses valores se referem ao caso de uma esfera homogeneamente carregada [11, 44]. S. J. Carvalho estudou computacionalmente a adsorção de polieletrólitos em partículas “Janus” eletricamente neutras com hemisférios

opostamente carregados, obtendo o expoente crítico $a \approx 0,7$, para baixos valores de kappa, e $a \approx 1,9$, para altos valores de kappa [25].

No gráfico da Figura 4.14, que apresenta os resultados das simulações realizadas com a macromolécula com distribuição de cargas dipolar (círculos vazios) ou quadrupolar (quadrados vazios) neutra, obtemos o valor do coeficiente crítico da relação de escala $a \approx 1,8$ no limite de altas concentrações de sal, valor próximo ao observado para o caso da partícula Janus [25]. A curva que representa o quadrupolo sinaliza que, para um dado valor de Z , é necessária uma menor concentração de sal para promover a dessorção da cadeia, ou seja, o κ_c é deslocado para esquerda, região em que as curvas se aproximam. Já para pequenos valores de κ_C , as duas curvas se afastam cada vez mais uma da outra, o que é um resultado previsto quando observamos as energia de ligação média, $\langle E_B \rangle$. Além disso, o valor obtido de κ_C para o dipolo em $\kappa b \ll 1$ foi aproximadamente igual a 0,16, apresentando grande diferença em relação aos resultados obtidos com a partícula Janus [25].

Ao comparar os valores do expoente crítico a analítico e com os obtidos a partir das simulações computacionais, podemos constatar uma discrepância considerável nos resultados, principalmente, para o caso de $\kappa b \ll 1$. Essa diferença pode

Figura 4.14: Magnitude das cargas da macromolécula em função da concentração de sal crítica, κ_C , para um sistema formado por um polímero com $N_m = 20$ monômeros e uma macromolécula com distribuição de cargas dada por um dipolo neutro (círculos vazios) ou por um quadrupolo neutro (quadrados vazios) e com raio $b = 20\text{\AA}$. Na região acima das curvas, as configurações predominantes do polímero são as adsorvidas, enquanto que na região abaixo das curvas, as configurações dessorvidas predominam.



Fonte: Elaborada pelo autor.

ser entendida quando comparamos os graus de detalhamento de cada modelo proposto. Nos modelos analíticos [2–4, 11, 20], o polímero é adotado como uma cadeia gaussiana na presença de uma macromolécula homogeneamente carregada e com uma geometria bem definida (plana, cilíndrica e esférica). Já no modelo proposto neste trabalho, adotamos a cadeia polimérica como uma cadeia não ideal, de tamanho finito e comprimento de persistência dependente da força iônica, interagindo com uma macromolécula esférica com distribuição heterogênea de cargas pontuais em seu interior.

Esse conjunto de fatores contribui para a diminuição da entropia conformacional da cadeia devido às restrições decorrentes das interações eletrostáticas entre os monômeros do polieletrólito e as cargas no interior da macromolécula. Assim, esses fatores podem justificar a diferença entre o valor para o expoente crítico a obtido a partir das simulações realizadas neste trabalho e o valor encontrado analiticamente.

Já a principal diferença com o modelo da Janus [25] encontra-se na não homogeneidade da densidade superficial de cargas da macromolécula, adotada no modelo proposto neste trabalho, fato que resulta na diferença dos valores do expoente a encontrados para o caso de baixo valores de κ .

Capítulo 5

CONCLUSÕES

Neste estudo foram investigados, por meio de simulações de Monte Carlo associadas ao algoritmo de Metropolis, os princípios gerais da interação entre polieletrólitos e macromoléculas com distribuição heterogênea de cargas, tendo por ênfase as condições críticas de adsorção.

Em resumo, observou-se que o aumento da força iônica favorece o surgimento de configurações no estado desorvido do polieletrólito, levando o sistema a coexistência entre os estados adsorvido e desorvido do polímero, como pode ser visto pelas variações abruptas da energia de ligação média na Figura 4.3-A. A descontinuidade da energia de ligação observada na coexistência de estados é uma característica de transição de fase de primeira ordem e está associada às transições energéticas e conformacionais do polieletrólito. Para configurações de cargas mais complexas, como no caso do quadrupolo, o incremento da heterogeneidade do potencial eletrostático na superfície da macromolécula limita a energia de ligação média, como observado na Figura 4.4. Além disso, constatou-se o aumento da complexidade da distribuição de cargas da macromolécula diminuir a estabilidade da adsorção do polieletrólito sobre a macromolécula.

Também verificou-se que o acréscimo dos valores das cargas Z do dipolo resultam no aumento do número de monômeros adsorvidos sobre a superfície da macromolécula, além do incremento dos valores da energia eletrostática atrativa na formação dos novos contatos. Esses fatores resultaram na diminuição dos valores médios da energia de ligação e do raio de giro do polímero, como apresentado nos gráficos da Figura 4.8.

Verificou-se a adsorção do polímero em uma macromolécula de mesmo sinal, como apresentado nas probabilidades de energia de ligação $P(E_B)$, Figura 4.11, e na fração do polímero adsorvido (Figura 4.12). Esses resultados concordam qualitativa-

mente com os obtidos experimentalmente por P. L. Dubin e colaboradores [12, 13, 23]. A partir dos valores críticos da força iônica (κ_c) obtidos para cada valor de carga Z do dipolo e do quadrupolo, conseguimos aplicar a relação de escala 1.2 para os altos valores de Z , recuperando o expoente $a = 1,80$ para $\kappa b \gg 1$ e $a = 0,16$ para $\kappa b \ll 1$. O valor encontrado para a diverge do valor proposto analiticamente, $a = 1$, para baixa força iônica, e $a = 3$, para alta força iônica, para o caso esférico [20]. Essa diferença nos valores de a , entre o modelo proposto neste trabalho e os modelos analíticos, pode ser relacionada ao grau de detalhamento na descrição do sistema. Diferentemente do que é proposto pelos trabalhos analíticos, nós consideramos a macromolécula com uma distribuição heterogênea de cargas.

Os resultados obtidos neste trabalho apresentaram-se satisfatórios, conseguindo reproduzir de forma qualitativa os resultados experimentais importantes e aproximando-se quantitativamente do expoente crítico a para altos valores de κ . Deste modo, validando o modelo proposto. Permitido a aplicação deste modelo em estudos de sistemas mais complexos tais como pequenas proteínas.

REFERÊNCIAS

- 1 MARTIN LUTHER KING JR. 1929–1968.
- 2 WIEGEL, F. W. Adsorption of a macromolecule to a charged surface. *Journal of Physics A: Mathematical and General*, IOP Publishing, v. 10, n. 2, p. 299–303, feb 1977.
- 3 MUTHUKUMAR, M. Adsorption of a polyelectrolyte chain to a charged surface. *The Journal of Chemical Physics*, v. 86, n. 12, p. 7230–7235, 1987.
- 4 GOELER, F. von; MUTHUKUMAR, M. Adsorption of polyelectrolytes onto curved surfaces. *The Journal of Chemical Physics*, v. 100, n. 10, p. 7796–7803, 1994.
- 5 MCQUIGG, D. W.; KAPLAN, J. I.; DUBIN, P. L. Critical conditions for the binding of polyelectrolytes to small oppositely charged micelles. *The Journal of Physical Chemistry*, v. 96, n. 4, p. 1973–1978, 1992.
- 6 VRIES, R. de; STUART, M. C. Theory and simulations of macroion complexation. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, v. 11, n. 5, p. 295 – 301, 2006. ISSN 1359-0294.
- 7 ULRICH, S.; SEIJO, M.; STOLL, S. The many facets of polyelectrolytes and oppositely charged macroions complex formation. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, v. 11, n. 5, p. 268 – 272, 2006. ISSN 1359-0294.
- 8 POON, W. C. K.; ANDELMAN, D. *Soft Condensed Matter Physics in Molecular and Cell Biology*. 1ed. ed. New York, USA: Taylor and Francis, 2006. ISBN 978-0-7503-1023-9.
- 9 CARVALHO, S. J. de. First-order-like transition in salt-induced macroion-polyelectrolyte desorption. *EPL (Europhysics Letters)*, v. 92, n. 1, p. 18001, 2010.
- 10 KAYITMAZER, A. B. et al. Protein–polyelectrolyte interactions. *Soft Matter*, The Royal Society of Chemistry, v. 9, p. 2553–2583, 2013.
- 11 CARVALHO, S. J. de; METZLER, R.; CHERSTVY, A. G. Inverted critical adsorption of polyelectrolytes in confinement. *Soft Matter*, The Royal Society of Chemistry, v. 11, p. 4430–4443, 2015.
- 12 SEYREK, E. et al. Ionic strength dependence of protein-polyelectrolyte interactions. *Biomacromolecules*, v. 4, n. 2, p. 273–282, 2003.

-
- 13 COMERT, F. et al. The so-called critical condition for polyelectrolyte-colloid complex formation. *The Journal of Chemical Physics*, v. 149, n. 16, p. 163321, 2018.
- 14 GUTCHO, S. Waste treatment with polyelectrolytes and other flocculants. 01 1977.
- 15 DUBIN, P. et al. *Macromolecular Complexes in Chemistry and Biology*. 1ed. ed. New York, USA: [s.n.], 1994. ISBN 9978-3-642-78469-9.
- 16 FOGOLARI, F. et al. Biomolecular electrostatics with the linearized poisson-boltzmann equation. *Biophysical Journal*, v. 76, p. 1–16, January 1999.
- 17 ANTOSIEWICZ, J.; MCCAMMON, J. A.; GILSON, M. K. Prediction of ph-dependent properties of proteins. *Journal of Molecular Biology*, Elsevier, v. 238, n. 3, p. 415–436, 1994.
- 18 DOI, M.; EDWARDS, S. F. *The Theory of Polymer Dynamics*. 1ed. ed. New York, USA: Oxford University Press Inc., 1986. ISBN 0 19 852033.
- 19 WANG, Y. et al. Effects of salt on polyelectrolyte–micelle coacervation. *Macromolecules*, v. 32, n. 21, p. 7128–7134, 1999.
- 20 CHERSTVY, A. G.; WINKLER, R. G. Polyelectrolyte adsorption onto oppositely charged interfaces: unified approach for plane, cylinder, and sphere. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, The Royal Society of Chemistry, v. 13, p. 11686–11693, 2011.
- 21 CAETANO, D. L. Z. *Estudo por simulação computacional da interação entre polianfóteros fracos e macroíons cilíndricos*. 92 f. Dissertação (Mestrado em Biofísica Molecular) — Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista - IBILCE/UNESP, São José do Rio Preto, 2013.
- 22 OLIVEIRA, V. M. de; CARVALHO, S. J. de. Adsorption of ph-responsive polyelectrolyte chains onto spherical macroions. *The European Physical Journal E*, v. 37, n. 8, p. 75, Aug 2014.
- 23 MINSKY, B. B.; ZHENG, B.; DUBIN, P. L. Inhibition of antithrombin and bovine serum albumin native state aggregation by heparin. *Langmuir*, v. 30, n. 1, p. 278–287, 2014.
- 24 MATTISON, K. W.; DUBIN, P. L.; BRITTAIN, I. J. Complex formation between bovine serum albumin and strong polyelectrolytes: effect of polymer charge density. *The Journal of Physical Chemistry B*, v. 102, n. 19, p. 3830–3836, 1998.
- 25 CARVALHO, S. J. de; METZLER, R.; CHERSTVY, A. G. Critical adsorption of polyelectrolytes onto charged janus nanospheres. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, The Royal Society of Chemistry, v. 16, p. 15539–15550, 2014.
- 26 KIRKWOOD, J. G. Theory of solutions of molecules containing widely separated charges with special application to zwitterions. *T J. Chem. Phys.*, v. 2, n. 7, p. 351–361, July 1934.

-
- 27 DAVIS, M. E.; MCCAMMON, J. A. Electrostatics in biomolecular structure and dynamics. *Chemical Reviews*, v. 90, n. 3, p. 509–521, 1990.
- 28 WALLIN, T.; LINSE, P. Monte carlo simulations of polyelectrolytes at charged micelles. 1. effects of chain flexibility. *Langmuir*, v. 12, n. 2, p. 305–314, 1996.
- 29 ULRICH, S. et al. Formation of complexes between nanoparticles and weak polyampholyte chains. monte carlo simulations. *Macromolecules*, v. 44, n. 6, p. 1661–1670, 2011.
- 30 CHEN, Y.; QI, Z.; DING, J. A coarse-grained model and associated lattice monte carlo simulation of the coil-helix transition of a homopolyptide. *J Chem Phys*, v. 120, n. 7, p. 3467–3474, 2004.
- 31 MCQUARRIE, D. A. *Statistical Mechanics*. 1st. ed. New York, USA: University Science Books, 1976. ISBN 978-1-938787-31-7.
- 32 JACKSON, J. D. *Classical Electrodynamics*. 3ed. ed. Berkeley, USA: John Wiley and Sons, Inc., 1998. ISBN 047130932X.
- 33 MARQUES, L. C. *Estudo do Potencial Elétrico de Macromoléculas em Solução*. 36 p. Monografia (Iniciação Científica) — Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista - IBILCE/UNESP, São José do Rio Preto, 2017.
- 34 METROPOLIS, N. et al. Equation of state calculations by fast computing machines. *J. Chem. Phys*, AIP, v. 21, n. 1087, 1953.
- 35 FRENKEL D.; SMIT, B. Understanding molecular simulation: From algorithms to applications. *Academic Press*, AIP, 1996.
- 36 CAETANO, D. L. Z.; CARVALHO, S. J. de. Conformational properties of block-polyampholytes adsorbed on charged cylindrical surfaces”. *The European Physical Journal E*, v. 40, n. 3, p. 33, 2017.
- 37 CARVALHO, D. L. Z. C. S. J. D. Adsorption of polyelectrolytes onto oppositely charged cylindrical macroions. *The Journal of chemical physics*, AIP, v. 138, n. 24, p. 244909, 2013.
- 38 HILL, T. L. *An Introduction to Statistical Thermodynamics*. New York, USA: Dover Publications Inc., 1986. ISBN 0486652424.
- 39 ARFKEN, G. B.; WEBER, H. J. *Física Matemática - Métodos Matemáticos para Engenharia e Física*. 6ed. ed. Rio de Janeiro, Brazil: Elsevier - Campus, Inc., 2007. ISBN 9788535220506.
- 40 CASQUILHO, J. P.; TEIXEIRA, P. I. C. *Introdução à Física Estatística*. [S.l.]: Editora Livraria da Física, 2012.
- 41 DAUNE, M. *Molecular Biophysics: Structures in Motion*. New York, USA: Oxford University Press, 1999. ISBN 978-0198577829.

- 42 ANTOSIEWICZ, J. Computation of the dipole moments of proteins. *Biophysical Journal*, v. 69, n. 4, p. 1344 – 1354, 1995. ISSN 0006-3495.
- 43 FELDER, C. E. et al. A server and database for dipole moments of proteins. *Nucleic Acids Research*, v. 35, p. 512–521, 07 2007.
- 44 CHERSTVY, A. G.; WINKLER, R. G. Strong and weak adsorptions of polyelectrolyte chains onto oppositely charged spheres. *The Journal of Chemical Physics*, v. 125, n. 6, p. 064904, 2006.
- 45 GRIFFITHS, D. J. *Introduction to Eletrodynamics*. 3. ed. New Jersey, USA: Prentice-Hall, Inc., 1999. ISBN 9788576058861.
- 46 MACHADO, K. D. *Teoria do eletromagnetismo*. 3ed. ed. Rio de Janeiro, Brazil: Editora UEPG, 2007. ISBN 8586941-07-7.

APÊNDICE A - Dedução dos Potenciais Eletrostático da Macromolécula

Os cálculos aqui apresentados foram previamente realizados em [33].

Potencial externo, ψ_{ext}

Partindo da equação de Helmholtz para encontrar o potencial externo a macromolécula ψ_{ext} , temos:

$$\nabla^2 \psi_{ext} - \kappa^2 \psi_{ext} = 0, \quad (1)$$

onde ∇^2 é o Laplaciano dado em coordenadas esféricas:

$$\frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left(r^2 \frac{\partial}{\partial r} \right) + \frac{1}{r^2 \sin \theta} \frac{\partial}{\partial \theta} \left(\sin \theta \frac{\partial}{\partial \theta} \right) + \frac{1}{r^2 \sin^2 \theta} \frac{\partial^2}{\partial \varphi^2}. \quad (2)$$

Aplicando o Laplaciano em $\psi_{ext}(r, \theta, \varphi) = R(r)\Theta(\theta)\Phi(\varphi)$, temos:

$$\begin{aligned} \frac{\Theta(\theta)\Phi(\varphi)}{r^2} \frac{d}{dr} \left(r^2 \frac{dR(r)}{dr} \right) + \frac{R(r)\Phi(\varphi)}{r^2 \sin \theta} \frac{d}{d\theta} \left(\sin \theta \frac{d\Theta(\theta)}{d\theta} \right) + \frac{R(r)\Theta(\theta)}{r^2 \sin^2 \theta} \frac{d^2 \Phi(\varphi)}{d\varphi^2} + \\ - \kappa^2 R(r)\Theta(\theta)\Phi(\varphi) = 0. \end{aligned} \quad (3)$$

Dividindo por $R(r)\Theta(\theta)\Phi(\varphi)$ e multiplicando por r^2 a equação 2, temos:

$$\begin{aligned} \frac{1}{R(r)} \frac{d}{dr} \left(r^2 \frac{dR(r)}{dr} \right) + \frac{1}{\Theta(\theta) \sin \theta} \frac{d}{d\theta} \left(\sin \theta \frac{d\Theta(\theta)}{d\theta} \right) + \frac{1}{\Phi(\varphi) \sin^2 \theta} \frac{d^2 \Phi(\varphi)}{d\varphi^2} + \\ - r^2 \kappa^2 = 0. \end{aligned} \quad (4)$$

$$\left[\frac{1}{R(r)} \frac{d}{dr} \left(r^2 \frac{dR(r)}{dr} \right) - r^2 \kappa^2 \right] + \left[\frac{1}{\Theta(\theta) \sin \theta} \frac{d}{d\theta} \left(\sin \theta \frac{d\Theta(\theta)}{d\theta} \right) + \frac{1}{\Phi(\varphi) \sin^2 \theta} \frac{d^2 \Phi(\varphi)}{d\varphi^2} \right] = 0. \quad (5)$$

Separando a parte radial da parte angular e iguando-as a uma constante, temos:

$$\left[\frac{1}{R(r)} \frac{d}{dr} \left(r^2 \frac{dR(r)}{dr} \right) - r^2 \kappa^2 \right] = l(l+1); \quad (6)$$

$$\left[\frac{1}{\Theta(\theta) \sin \theta} \frac{d}{d\theta} \left(\sin \theta \frac{d\Theta(\theta)}{d\theta} \right) + \frac{1}{\Phi(\varphi) \sin^2 \theta} \frac{d^2 \Phi(\varphi)}{d\varphi^2} \right] = -l(l+1). \quad (7)$$

Trabalhando a parte angular, obtemos:

$$\left[\frac{1}{\Theta(\theta)} \sin \theta \frac{d}{d\theta} \left(\sin \theta \frac{d\Theta(\theta)}{d\theta} \right) + l(l+1) \sin^2 \theta \right] + \frac{1}{\Phi(\varphi)} \frac{d^2 \Phi(\varphi)}{d\varphi^2} = 0.$$

$$\left[\frac{1}{\Theta(\theta)} \sin \theta \frac{d}{d\theta} \left(\sin \theta \frac{d\Theta(\theta)}{d\theta} \right) + l(l+1) \sin^2 \theta \right] = m^2; \quad (8)$$

$$\frac{1}{\Phi(\varphi)} \frac{d^2 \Phi(\varphi)}{d\varphi^2} = -m^2. \quad (9)$$

Para $\Phi(\varphi)$, temos:

$$\frac{d^2 \Phi}{d\varphi^2} = -m^2 \Phi(\varphi) \Rightarrow \Phi(\varphi) = e^{\pm im\varphi}, \quad (10)$$

onde trabalharemos apenas com o termo imaginário positivo da solução de Φ .

Para $\Theta(\theta)$, temos:

$$\sin \theta \frac{d}{d\theta} \left(\sin \theta \frac{d\Theta(\theta)}{d\theta} \right) + [l(l+1) \sin^2 \theta - m^2] \Theta = 0. \quad (11)$$

Dividindo 11 por $\sin^2(\theta)$ obtemos:

$$\frac{1}{\sin^2 \theta} \frac{d}{d\theta} \left(\sin \theta \frac{d\Theta(\theta)}{d\theta} \right) + [l(l+1) - \frac{m^2}{\sin^2 \theta}] \Theta = 0. \quad (12)$$

Utilizando,

$$x = \cos \theta$$

$$\frac{d}{d\theta} = \frac{dx}{d\theta} \frac{d}{dx} = -\sin \theta \frac{d}{dx},$$

podemos escrever 11, como:

$$(1-x^2)\frac{d^2\Theta}{dx^2} - 2x\frac{d\Theta}{dx} + \left[l(l+1) - \frac{m^2}{1-x^2}\right]\Theta = 0, \quad (13)$$

em que 13 é a equação diferencial generalizada de Legendre e sua solução é dada por:

$$\Theta(\theta) = P_l^m(\cos \theta), \quad (14)$$

onde os termos P_l^m são os Polinômios associados de Legendre, definido por:

$$P_m^l \equiv (1-x^2)^{|m|/2} \left(\frac{d}{dx}\right)^{|m|} P_l(x), \quad (15)$$

em que $P_l(x)$ é o polinômio de Legendre, dado pela fórmula de Rodrigues:

$$P_l \equiv \frac{1}{2^l l!} \left(\frac{d}{dx}\right)^l P_l(x). \quad (16)$$

A partir da combinação das soluções para Θ e Φ , podemos definir os harmônicos esféricos.

$$Y_l^m(\theta, \varphi) = \nu P_l^m(\cos \theta) e^{im\varphi}, \quad (17)$$

onde ν é a constante de normalização:

$$\nu = \sqrt{\frac{2l+1}{4\pi} \frac{(l-|m|)!}{(l+|m|)!}}.$$

Resolvendo a parte radial, temos:

$$\frac{1}{R(r)} \frac{d}{dr} \left(r^2 \frac{dR(r)}{dr} \right) - r^2 \kappa^2 = l(l+1). \quad (18)$$

Multiplicando a equação 18 por $R(r)$, temos:

$$r^2 \frac{d^2 R(r)}{dr^2} + 2r \frac{dR(r)}{dr} - [r^2 \kappa^2 + l(l+1)] R(r) = 0. \quad (19)$$

Adotando $x = \kappa r$, temos:

$$\frac{dR(r)}{dr} = \kappa r \frac{dR(r)}{\kappa dr} = x \frac{dR(x)}{dx};$$

$$r^2 \frac{d^2 R(r)}{dr^2} = x^2 \frac{d^2 R(x)}{dx^2}.$$

Reescrevendo a equação 19, obtemos:

$$x^2 \frac{d^2 R(x)}{dx^2} + 2x \frac{dR(x)}{dx} - [x^2 \kappa^2 + l(l+1)]R(x) = 0. \quad (20)$$

A equação 20 é conhecida como equação diferencial esférica modificada de Bessel e ela tem duas soluções de primeira e segunda ordem.

$$\begin{aligned} R(r\kappa) &= \mathcal{C}_{lm}\mathcal{I}_l(r\kappa) + \mathcal{B}_{lm}\mathcal{K}_l(r\kappa) \\ x &= \kappa r. \end{aligned} \quad (21)$$

Tomaremos somente a solução de segunda ordem, pois a solução de primeira ordem, $\mathcal{I}_l(\kappa r)$, tende para os infinitos com $r \rightarrow \infty$. Então, temos:

$$R(x) = \mathcal{B}_{lm}\mathcal{K}_l(x). \quad (22)$$

Combinando as soluções encontradas para as partes radial e angular, temos:

$$\psi_{ext}(r, \theta, \varphi) = \sum_{l=0}^{\infty} \sum_{m=-l}^l \mathcal{B}_{lm}\mathcal{K}_l(\kappa r) P_l^m(\cos\theta) e^{im\varphi}. \quad (23)$$

Potencial interno, ψ_{int}

O potencial interno ψ_{int} da macromolécula será dado por dois termos, o primeiro proveniente da distribuição interna de cargas e o segundo devido a distribuições de cargas existente na solução externa. As posições das cargas da macromolécula são dadas pelas coordenadas conhecidas r_k , θ_k e φ_k . Além disso não temos íons dissociados no interior da macromolécula. Então o potencial interno será dado por:

$$\psi_{int} = \sum_{k=1}^{N_C} \frac{Z_k e}{4\pi\epsilon_0\epsilon_m} \frac{1}{|\vec{r} - \vec{r}_k|} + \Psi, \quad (24)$$

Ψ será calculado a partir da equação de Laplace:

$$\nabla^2 \Psi = 0. \quad (25)$$

Aplicando o Laplaciano em $\psi_{int}(r, \theta, \varphi) = R(r)\Theta(\theta)\Phi(\varphi)$, obtemos:

$$\frac{\Theta(\theta)\Phi(\varphi)}{r^2} \frac{d}{dr} \left(r^2 \frac{dR(r)}{dr} \right) + \frac{R(r)\Phi(\varphi)}{r^2 \sin \theta} \frac{d}{d\theta} \left(\sin \theta \frac{d\Theta(\theta)}{d\theta} \right) + \frac{R(r)\Theta(\theta)}{r^2 \sin^2 \theta} \frac{d^2 \Phi(\varphi)}{d\varphi^2} = 0. \quad (26)$$

Separando a parte radial da parte angular e iguando-as a uma contante, temos:

$$\left[\frac{1}{R(r)} \frac{d}{dr} \left(r^2 \frac{dR(r)}{dr} \right) \right] = l(l+1); \quad (27)$$

$$\left[\frac{1}{\Theta(\theta) \sin \theta} \frac{d}{d\theta} \left(\sin \theta \frac{d\Theta(\theta)}{d\theta} \right) + \frac{1}{\Phi(\varphi) \sin^2 \theta} \frac{d^2 \Phi(\varphi)}{d\varphi^2} \right] = -l(l+1). \quad (28)$$

Trabalhando a parte angular, temos:

$$\left[\frac{1}{\Theta(\theta)} \sin \theta \frac{d}{d\theta} \left(\sin \theta \frac{d\Theta(\theta)}{d\theta} \right) + l(l+1) \sin^2 \theta \right] + \frac{1}{\Phi(\varphi)} \frac{d^2 \Phi(\varphi)}{d\varphi^2} = 0.$$

$$\left[\frac{1}{\Theta(\theta)} \sin \theta \frac{d}{d\theta} \left(\sin \theta \frac{d\Theta(\theta)}{d\theta} \right) + l(l+1) \sin^2 \theta \right] = m^2; \quad (29)$$

$$\frac{1}{\Phi(\varphi)} \frac{d^2 \Phi(\varphi)}{d\varphi^2} = -m^2. \quad (30)$$

Para $\Phi(\varphi)$, temos:

$$\frac{d^2 \Phi}{d\varphi^2} = -m^2 \Phi(\varphi) \Rightarrow \Phi(\varphi) = e^{\pm im\varphi}, \quad (31)$$

onde trabalharemos apenas com o termo positivo da solução de Φ .

Para $\Theta(\theta)$, temos:

$$\sin \theta \frac{d}{d\theta} \left(\sin \theta \frac{d\Theta(\theta)}{d\theta} \right) + [l(l+1) \sin^2 \theta - m^2] \Theta = 0. \quad (32)$$

A solução é dada por:

$$\Theta(\theta) = P_l^m(\cos \theta), \quad (33)$$

onde os termos P_l^m são os Polinômios associados de Legendre, definidos por:

$$P_m^l \equiv (1-x^2)^{|m|/2} \left(\frac{d}{dx} \right)^{|m|} P_l(x), \quad (34)$$

onde $P_l(x)$ é o polinômio de Legendre, dado pela fórmula de Rodrigues:

$$P_l \equiv \frac{1}{2^l l!} \left(\frac{d}{dx} \right)^{|m|} P_l(x). \quad (35)$$

Combinando as soluções de Θ e Φ , obtemos os harmônicos esféricos, $Y_{l,m}$ (vide equação 17).

Resolvendo a parte radial, temos:

$$\frac{1}{R(r)} \frac{d}{dr} \left(r^2 \frac{dR(r)}{dr} \right) = l(l+1), \quad (36)$$

onde 36 é conhecida como equação diferencial de Cauchy-Euler. Sua solução geral é dada por:

$$R_l(r) = A_l r^l + F_l r^{-(l+1)}. \quad (37)$$

Para que o potencial não ir para o infinito em $\vec{r} = 0$, a constante F_l deverá ser nula, assim temos:

$$R_l(r) = A r^l. \quad (38)$$

Expandindo o primeiro termo do potencial (equação 24) em multipolos, obtemos:

$$\frac{1}{|\vec{r} - \vec{r}_k|} = 4\pi \sum_{l=0}^{\infty} \sum_{m=-l}^{m=l} \frac{1}{2l+1} \left(\frac{r_k^l}{r^{l+1}} \right) Y_{l,m}^*(\theta_k, \varphi_k) Y_{l,m}(\theta, \varphi), \quad (39)$$

onde $Y_{l,m}$ são os harmônicos esféricos definidos pela equação 17.

Logo, podemos escrever:

$$\sum_{k=1}^M \frac{Z_k e}{4\pi\epsilon_0\epsilon_m} \frac{1}{|\vec{r} - \vec{r}_k|} = \sum_{l=0}^{\infty} \sum_{m=-l}^{+l} \frac{E_{lm}}{\epsilon_m r^{l+1}} P_l^m(\cos \theta) e^{im\varphi}, \quad (40)$$

em que E_{lm} pode ser escrito como:

$$E_{lm} = \left[\frac{(l - |m|)!}{(l + |m|)!} \right] \sum_{k=1}^M \frac{Z_k e r_k^l}{4\pi\epsilon_0} P_l^m(\cos \theta_k) e^{-im\varphi_k}. \quad (41)$$

Assim, trocando os índices das somatórias de l por n , podemos reescrever 24 como:

$$\psi_{int} = \sum_{n=0}^{\infty} \sum_{m=-n}^{+n} \left[\frac{E_{nm}}{\epsilon_m r^{n+1}} + A_{nm} r^n \right] P_n^m(\cos \theta) e^{im\varphi}. \quad (42)$$

Condições de contorno

Aplicando as condições de contorno da continuidade do potencial elétrico e do deslocamento elétrico na interface da macromolécula com a solução, temos:

$$\psi_{ext}(r = b) = \psi_{int}(r = b). \quad (43)$$

$$\begin{aligned} \sum_{n=0}^{\infty} \sum_{m=-n}^{+n} B_{nm} \mathcal{K}_n(\kappa r) P_n^m(\cos \theta) e^{im\varphi} = \\ \sum_{n=0}^{\infty} \sum_{m=-n}^{+n} \left[\frac{E_{nm}}{\epsilon_m r^{n+1}} + A_{nm} r^n \right] P_n^m(\cos \theta) e^{im\varphi}. \end{aligned} \quad (44)$$

Para transformar as somatórias da equação 44 em integrais, aplicaremos o truque de Fourier (ver Griffiths 3.ed p.92 [45]).

$$B_{nm} \mathcal{K}_n(\kappa b) = \frac{E_{nm}}{\epsilon_m b^{2n+1}} + A_{nm} r^n. \quad (45)$$

Assim, isolando A_{nm} em função das outras constantes, temos:

$$A_{nm} = \frac{B_{nm} \mathcal{K}_n(\kappa b)}{b^n} - \frac{E_{nm}}{\epsilon_m b^{2n+1}}. \quad (46)$$

Agora, aplicando a condição de continuidade do deslocamento elétrico:

$$\left[\epsilon_s \vec{\nabla} \psi_{ext} \right]_{r=b} = \left[\epsilon_m \vec{\nabla} \psi_{int} \right]_{r=b}.$$

Para o termo radial, temos:

$$\begin{aligned} \epsilon_s \frac{\partial}{\partial r} \psi_{ext} = \epsilon_s \frac{d}{dr} \sum_{n=0}^{\infty} \sum_{m=-n}^{+n} B_{nm} \mathcal{K}_n(\kappa r) P_n^m(\cos \theta) e^{im\varphi} = \\ \epsilon_s \sum_{n=0}^{\infty} \sum_{m=-n}^{+n} P_n^m(\cos \theta) e^{im\varphi} [B_{nm} \kappa \mathcal{K}'_n(\kappa r)]. \end{aligned} \quad (47)$$

$$\begin{aligned} \epsilon_m \frac{\partial}{\partial r} \psi_{int} = \epsilon_m \frac{d}{dr} \sum_{n=0}^{\infty} \sum_{m=-n}^{+n} P_n^m(\cos \theta) e^{im\varphi} \left[\frac{-E_{nm}(n+1)r^{-(n+2)}}{\epsilon_m} + n A_{nm} r^{n-1} \right] = \\ \sum_{n=0}^{\infty} \sum_{m=-n}^{+n} P_n^m(\cos \theta) e^{im\varphi} [-E_{nm}(n+1)r^{-(n+2)} + \epsilon_m n A_{nm} r^{n-1}]. \end{aligned} \quad (48)$$

Aplicando o truque de Fourier nas equações 47 e 48, encontraremos a seguinte relação:

$$\epsilon_s B_{nm} \kappa \mathcal{K}'_n(\kappa r) = -E_{nm}(n+1)r^{-(n+2)} + \epsilon_m n A_{nm} r^{n-1}. \quad (49)$$

Substituindo 46 em 49, conseguimos encontrar a constante do potencial externo, B_{nm} :

$$B_{nm} = \frac{E_{nm}}{b^{n+1}} \frac{(2n+1)}{(\epsilon_m n \mathcal{K}_n(\kappa b) - \epsilon_s \kappa b \mathcal{K}'_n(\kappa b))}. \quad (50)$$

A solução para os termos angulares do vetor deslocamento elétrico são idênticas à relação obtida pela condição da continuidade do potencial, equação 45.

APENDICÊ B - Solução Geral para o Caso Esférico

Equação de Poisson-Boltzmann

As interações eletrostáticas entre os objetos carregados em solução podem ser tratadas por meio da equação de Poisson, em que relacionamos o potencial eletrostático $\psi(\vec{r})$ com uma dada densidade de carga local $\rho(\vec{r})$ [45]:

$$\nabla^2 \psi(\vec{r}) = -\frac{\rho(\vec{r})}{\epsilon_0 \epsilon_s}, \quad (51)$$

em que ∇^2 é o operador laplaciano; $\rho(\vec{r})$ a densidade de carga na posição $\vec{r}$; ϵ_0 é a permissividade elétrica do vácuo; e ϵ_s é a constante dielétrica do meio. Adotamos, simplificadoramente, o solvente como um meio contínuo.

Assumindo que a solução eletrolítica possui duas espécies iônicas, uma com densidade de carga positiva $\rho_+(\vec{r})$, e outra com densidade de cargas negativa $\rho_-(\vec{r})$, representando uma solução de NaCl, por exemplo. A densidade de carga total da solução será dada por [8]:

$$\rho(\vec{r}) = \rho_+(\vec{r}) + \rho_-(\vec{r}). \quad (52)$$

Reescrevendo a densidade em função da densidade numérica, temos:

$$\rho(\vec{r}) = e[z_+ n_+(\vec{r}) + z_- n_-(\vec{r})], \quad (53)$$

sendo que e é a carga elementar; $z_{\pm}$ é a valência dos íons positivos e negativos; e $n_{\pm}(\vec{r})$ é a densidade numérica de cada espécie iônica.

Uma vez que o sistema encontra-se em equilíbrio termodinâmico, a densi-

dade numérica pode ser dada pela distribuição de Boltzmann [38]:

$$n_{\pm} = n_{\pm}^0 \exp \left[-\frac{ez_{\pm}\psi(\vec{r})}{k_B T} \right], \quad (54)$$

sendo que $n_{\pm}^0$ é a densidade numérica das espécies iônicas no “*bulk*” da solução, onde consideramos que o potencial é nulo; k_B é a constante de Boltzmann; T é a temperatura; e $\psi(\vec{r})$ é o potencial eletrostático.

Substituindo as equações 53 e 54 na equação 51 (equação de Poisson), obtemos a equação de Poisson-Boltzmann (PB)

$$\nabla^2 \psi(\vec{r}) = -\frac{e}{\epsilon_0 \epsilon_s} \sum_{i=\pm} z_i n_i^0 \exp \left[-\frac{z_i e \psi(\vec{r})}{k_B T} \right]. \quad (55)$$

A equação de PB é uma equação diferencial parcial de segunda ordem não linear, aplicada para o estudo de interações de objetos carregados em solução eletrolítica. Devido sua complexidade, ela possui solução analítica para um número limitado de situações, como para geometria plana e cilíndrica com apenas uma espécie iônica [32, 45].

Aproximação de Debye-Hückel

Para energia potencial eletrostática com valores muito baixos quando comparados à energia térmica, $z_i e \psi(\vec{r}) \ll k_B T$, podemos expandir a exponencial da equação 55 em séries de Taylor:

$$\exp \left[-\frac{z_i e \psi(\vec{r})}{k_B T} \right] \approx 1 - \frac{z_i e \psi(\vec{r})}{k_B T}. \quad (56)$$

Substituindo a equação 56 na equação 55, temos:

$$\nabla^2 \psi(\vec{r}) = -\frac{e}{\epsilon_0 \epsilon_s} \left\{ \sum_{i=\pm} z_i n_i^0 - \sum_{i=\pm} \left[\frac{z_i^2 n_i^0 e \psi(\vec{r})}{k_B T} \right] \right\}. \quad (57)$$

O primeiro termo da equação 57 se anula devido à eletroneutralidade no *bulk* da solução, resultando na forma linearizada da equação de PB.

$$\nabla^2 \psi(\vec{r}) = \kappa^2 \psi(\vec{r}), \quad (58)$$

onde o parâmetro κ^{-1} é conhecido como comprimento de Debye [8] que tem unidade de comprimento e está diretamente ligado ao efeito de blindagem eletrostática realizado

pela concentração de sal dissociado em solução:

$$\kappa = \sqrt{\frac{1000e^2 N_a}{\epsilon_0 \epsilon_s k_B T} \sum_{i=1} z_i^2 C_{0i}}, \quad (59)$$

em que C_{0i} é a concentração molar no “bulk” da i -ésima espécie; N_a é o número de Avogadro; e z_i é a valência da espécie i . Esta aproximação é também conhecida como aproximação de Debye-Hückel (DH) [8].

A solução da equação de Poisson-Boltzmann linearizada para objetos esféricos carregados em solução é dada por (cálculos detalhados estão expostos no apêndice B):

$$\psi(r) = \frac{ze}{4\pi\epsilon_s\epsilon_0} \frac{\exp(-\kappa r)}{r}. \quad (60)$$

A equação 60 é conhecida como potencial de Coulomb blindado.

Para se obter as soluções da equação de Poisson-Boltzmann linearizada que descreve as interações monômero-monômero do polímero, utilizaremos coordenadas esféricas [27, 32, 45, 46].

$$\nabla^2 \psi_1(\vec{r}) = 0 \quad , 0 < \vec{r} \leq a; \quad (61)$$

$$\nabla^2 \psi_2(\vec{r}) = \kappa^2 \psi_2(\vec{r}) \quad , \vec{r} \geq a, \quad (62)$$

onde a é limite entre as regiões. Consideraremos que o potencial eletrostático apresentará apenas dependência das coordenadas radial r , temos:

$$\frac{1}{r^2} \frac{d}{dr} \left[r^2 \frac{d\psi_1(r)}{dr} \right] = 0; \quad (63)$$

$$\frac{1}{r^2} \frac{d}{dr} \left[r^2 \frac{d\psi_2(r)}{dr} \right] = \kappa^2 \psi_2(r). \quad (64)$$

Uma das soluções possíveis da equação 63 pode ser dada por:

$$\psi_1(r) = \frac{A}{r} + B. \quad (65)$$

E a solução da equação 64 pode ser escrita por:

$$\psi_2(r) = \frac{C \exp(\kappa r)}{r} + \frac{D \exp(-\kappa r)}{r} \quad (66)$$

Aplicando as condições de contornos abaixo nas soluções das equações 65 e 66, temos:

$$\psi_2(r)|_{r \rightarrow \infty} = 0; \quad (67)$$

$$\psi_1(r = b) = \psi_2(r = b); \quad (68)$$

$$-\nabla\psi_1(r = b) = -\nabla\psi_2(r = b); \quad (69)$$

$$-\oint_{r=a} \nabla\psi_1(r)\vec{n}dA = \frac{ze}{\epsilon_0\epsilon_s}; \quad (70)$$

Após aplicarmos as condições de contorno nas soluções 65 e 66, obtemos:

$$\psi_1(r) = ze \left[\frac{ze}{r} - \frac{\kappa}{(\kappa b + 1)} \right], \quad 0 < r \leq b, \quad (71)$$

$$\psi_2(r) = \frac{ze}{4\pi\epsilon_s\epsilon_0 r} \frac{\exp(-\kappa(r - b))}{(\kappa b + 1)}, \quad r \geq b, \quad (72)$$

Para este trabalho adotaremos somente a solução 72. Além disso, como simplificação tomaremos $b \rightarrow 0$, assim tomando o limite, temos:

$$\psi_2(r) = \frac{ze}{4\pi\epsilon_s\epsilon_0} \frac{\exp(-\kappa r)}{r}. \quad (73)$$

APÊNDICE C - Coordenadas das distribuições de cargas

Monopolo.

$$(X, Y, Z, q) = 0, 0, 0, -1$$

Carga deslocada do centro sobre o eixo Z.

$$(X, Y, Z, q) = 0, 0, 10, -1$$

Dipolo

$$(X, Y, Z, q) = -10.00, 0.00, 0.00, -1.00$$

$$(X, Y, Z, q) = 10.00, 0.00, 0.00, 1.00$$

Quadrupolo

$$(X, Y, Z, q) = 10, 0, 0, -10$$

$$(X, Y, Z, q) = -10, 0, 0, -10$$

$$(X, Y, Z, q) = 0, 0, 10, +10$$

$$(X, Y, Z, q) = 0, 0, -10, +10$$

Octopolo

$$(X, Y, Z, q) = 7.07, 7.07, -7.07, -10$$

$$(X, Y, Z, q) = 7.07, -7.07, +7.07, -10$$

$$(X, Y, Z, q) = -7.07, \quad 7.07, \quad +7.07, \quad -10$$

$$(X, Y, Z, q) = -7.07, \quad -7.07, \quad -7.07, \quad -10$$

$$(X, Y, Z, q) = 7.07, \quad 7.07, \quad +7.07, \quad +10$$

$$(X, Y, Z, q) = 7.07, \quad -7.07, \quad -7.07, \quad +10$$

$$(X, Y, Z, q) = -7.07, \quad 7.07, \quad -7.07, \quad +10$$

$$(X, Y, Z, q) = -7.07, \quad -7.07, \quad +7.07, \quad +10$$

BSA

<https://www.rcsb.org/structure/1AO6>

TERMO DE REPRODUÇÃO XEROGRÁFICA

Autorizo a reprodução xerográfica do presente Trabalho de Conclusão, na íntegra ou em partes, para fins de pesquisa.

São José do Rio Preto, 07/02/2020

Assinatura do autor