

## **Лекция 5**

### **Взаимодействие макромолекулы с водным раствором.**

Растворимость. Термодинамические характеристики. Гидрофобность.

Гидрофильность. Молекулярные модели для описания жидкой воды.

Статистико-механическое описание действия раствора на макромолекулу.

Представления растворителя – явное молекулярное и в виде физических моделей. Приближенные модели водного раствора.

Поверхность макромолекулы доступная для растворителя. Поверхность полости вытесненного растворителя. Модель гидратных оболочек.

Поляризация водного раствора. Обобщенная борновская модель. Модель непрерывных диэлектрических сред. Уравнение Пуассона-Больцмана.

Согласованная модель расчета энергии сольватации. Свободная энергия макромолекулы в водном растворе.

## Взаимодействие макромолекулы с водным раствором. Растворимость.

Более 70 % объёма живой клетки составляет **вода**

Взаимодействия макромолекула --- растворитель важны для стабилизации определенной структуры макромолекулы.

**Чем характеризуется растворитель –**

- состав основной компоненты (вода, вода-спирт, органический растворитель)
- **полярность** основной компоненты,  
вода > метанол > этанол > октанол > органика (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>)  
80            36.5        24            10            4-2
- **диэлектрическая константа** – мера полярности

Большая диэлектрическая константа: механизм - ориентационная дипольная поляризуемость - дипольный момент молекулы

- **энергия взаимодействия** между молекулами растворителя – убывают с полярностью  
вода > метанол > этанол > октанол > органика (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>)
- **pH раствора** - 7.0  
→ ионизация групп и изменение электростатических взаимодействий
- **ионная сила** - 0.15 M  
→ экранирование (ослабление) электростатических взаимодействий заряд-заряд облаком из мобильных противоионов 1:1

## **Растворимость**

Свободная энергия растворения =  
энергия молекулы в растворе – энергия в вакууме

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

**Хорошо растворимы** - гидрофильные вещества  
 $\Delta G < 0$

**Слабо (плохо) растворимы**  
 $\Delta G \approx 0$

**не растворимы** - гидрофобные вещества  
 $\Delta G > 0$

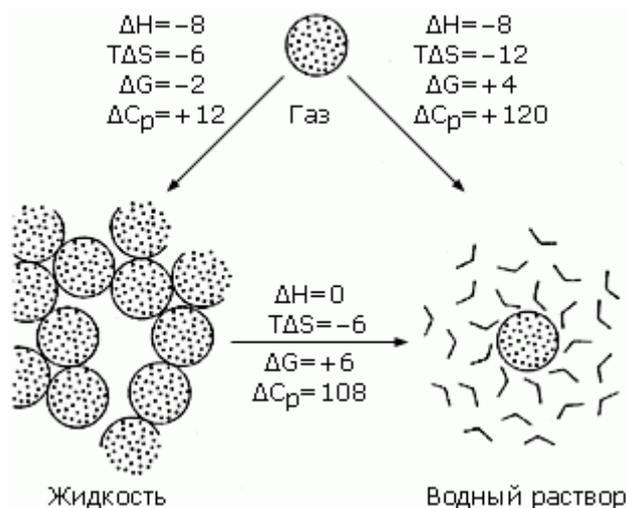
## Общие характеристики взаимодействия молекул с водным раствором

**Гидрофобность** - плохая растворимость,  
 молекулы кластеризуются – масло в воде  
**взаимодействия**  
 растворитель-растворитель > ГФоб молекула – растворитель

гидрофобные молекулы (или группы) вытесняются из воды

Гидрофобные -  
 соединения состоящие из электрически-нейтральных, неполярных  
 химических групп - заряды атомов  $\sim 0$  (малы),  
 дипольные моменты групп малы

**Углеводороды**  $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_n-\text{CH}_3$

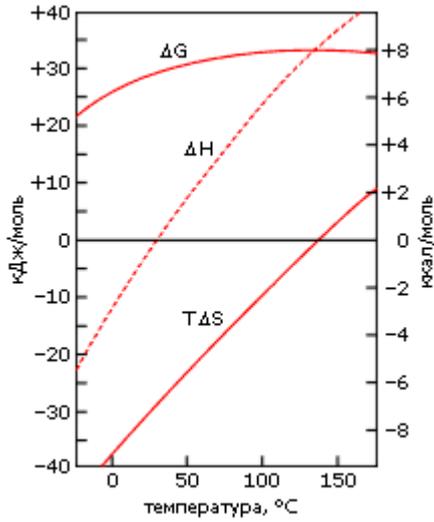


???.5-1. ?????????????? ?????????? ?????????? ?????????? ??????????,  
 ?????????????? ( $??_2$ )<sub>6</sub>, ?? ????? (??????) ? ????? (??????), ? ????? ? ??????  
 ?????????????? (?????), ? ?? ????? ? ?????.

????????????? ??????????? ??????????? ??????????? ????????

Растворимость увеличивается при низких Т

$$\begin{aligned}\Delta G &> 0 \\ \Delta H &\ll 0 \\ \Delta S &< 0\end{aligned}$$



???.5-2. ?????????????? ?????????? ?????????? ?????????? ??????????,  
????????? ? 5? 12, ?? ?????????? ?????????? ? ????? ??? ?????? ??????????????.

**Гидрофильность** - хорошая растворимость,  
молекулы окружаются слоем воды - гидратируются  
взаимодействия молекула-молекула <  
молекула – растворитель

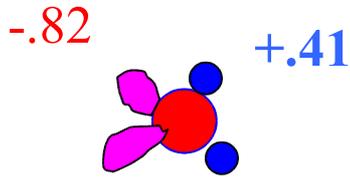
- соединения состоящие из электрически заряженных атомов,  
полярных химических групп

- полярная группа (атом)  
заряды атомов ( $> 0.1$ ),  
есть дипольные моменты связей

- большинство веществ – гидрофильные или смешанные  
гидрофобно-гидрофильные

## Структура воды

H<sub>2</sub>O



SPC, TIP3

Правильное описание структуры ближнего порядка жидкой воды и структуры льда,  
Энергия испарения ~10 kcal/mol

Термодин

### Жидкая вода

- каждая молекула связана 4-мя Н-связями с 4-мя соседями
  - энергия **1** связи ~ **5** ккал/моль
- структура = объемная тетраэдрическая сетка водородных связей,  
сильные взаимодействия вода-вода



## Экспериментальная термодинамика гидратации химических групп

$$\Delta G_{\text{solv}} = \Delta G(\text{растворения}) = \\ + \Delta H(\text{растворения}) - T \Delta S(\text{растворения})$$

Эксперименты по измерению  $\Delta G_{\text{solv}}$  и  $\Delta H_{\text{solv}}$  растворения  
[Cabani, S. et al. J.Sol.Chem. 1981, v.10, p.563-659;  
Dec S.F., et al. J. Sol Chem. 1984, v.13, 27-41]

$\Delta H_{\text{solv}}$  - из микрокалориметрических экспериментов – прямое измерение теплоты (поглощение или выделение) при растворении

$\Delta G_{\text{solv}} = RT \ln(\rho_{\text{gas}}/\rho_{\text{solution}})$  - отношение *молярных концентраций* вещества в газовой фазе и растворе

Эксперименты для большого репрезентативного набора малых молекул с разными химическими группами и атомами

Вычисляются атомные (групповые) вклады в энтальпии и свободной энергии гидратации

$$\Delta g_{\text{solv},i}$$

## Аддитивная схема

Свойство молекулы = сумма свойств атомов

$$\Delta G_{\text{solv}} = \sum_i \text{SAS}_i \Delta g_{\text{solv } i}$$

$\text{SAS}_i$  – величина доступной гидратной поверхности группы  $i$

поверхность доступная растворителю

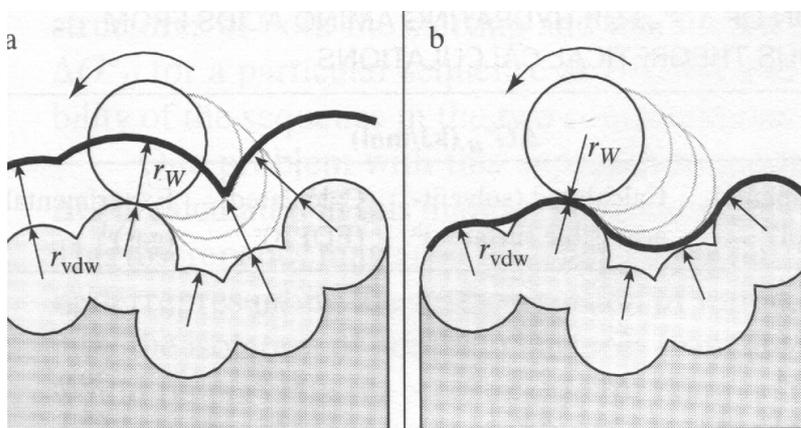


Рис.5-4

a – **SAS** – solvent accessible surface – поверхность доступная растворителю

b – **MS** - molecular surface – поверхность полости вытесненного (молекулой) растворителя

Таблица 5-1. **Парциальные энтальпии и свободные энергии** растворения атомов из газовой фазы.

[G.Makharadze, P.Privalov *J.Mol.Biol.*1993, v.232, p.639-679]

1 kcal = 4.18 kJ

атом	$\Delta g_i$ , kJ/mol	$\Delta h_i$	$\Delta s_i * T$ , 300K
-CH <sub>2</sub> -	0.72	-3.39	-4.10
-CH <sub>3</sub>	3.72	-8.28	-12.0
-OH	-25.62	-39.60	-14.02
-NH <sub>2</sub>	-23.64	-38.61	-15.0
>C=O	-23.13	-25.05	-1.9
-COOH	-31.71	-43.94	-12.23
-NH-	-25.74	-38.74	-13.0
-N=	-16.81	-20.31	-3.5
-S-	-14.41	-19.56	-5.15
<b>H<sub>2</sub>O</b>	<b>-26.3</b>	<b>-41.8</b>	<b>-15.5</b>
-CH<	-1.62	2.83	+4.45
>C<	-4.86	2.83	+13.31
=CH	-.60	2.63	+7.2

$\Delta G$  = энергия молекулы в растворе – энергия в вакууме

$\Delta H < 0$  = потенциальная энергия взаимодействия с водой

$\Delta S * T < 0$  – потеря энтропии =

упорядочение структуры воды в гидратной оболочке  
уменьшение позиционных флуктуаций, упрочнение водного каркаса вокруг растворенной молекулы

**энтропия отрицательна как для гидрофобных так и гидрофильных групп**

## Статистико-механическое описание действия раствора на макромолекулу

### Химический потенциал растворенной молекулы

$$\mu = \mu_{\text{ins fixed}} + \mu_{\text{transl}}$$

$\mu_{\text{ins fixed}}$  – работа по транспорту фиксированной молекулы из газа в раствор

$$\mu_{\text{ins fixed}} = \Delta G_{\text{solv}}$$

$\mu_{\text{transl}}$  - работа освобождения фиксированной молекулы – трансляционная энтропия

$$\mu_{\text{transl}} = -TS_{\text{transl}} = RT \ln(\rho \Lambda^3)$$

$\rho$  - молярная плотность молекул в растворе,

$\Lambda$  - длина волны Де Бройля

$$\Lambda = \frac{h}{(2\pi mkT)^{1/2}}$$

## Растворение как последовательность элементарных термодинамических процессов

### газовая фаза

- 1) **образование молекулярной полости**  
в растворителе –  
атомы = твердые сферы  
(нет взаимодействий)
- 2) **включение** ван дер ваальсовых  
взаимодействий  
молекула - растворитель
- 3) **заряжание атомов - включение**  
электростатических взаимодействий  
молекула – растворитель = Н-связи и  
поляризация растворителя
- 4) **ионизация** – связывание-диссоциация  
протонов

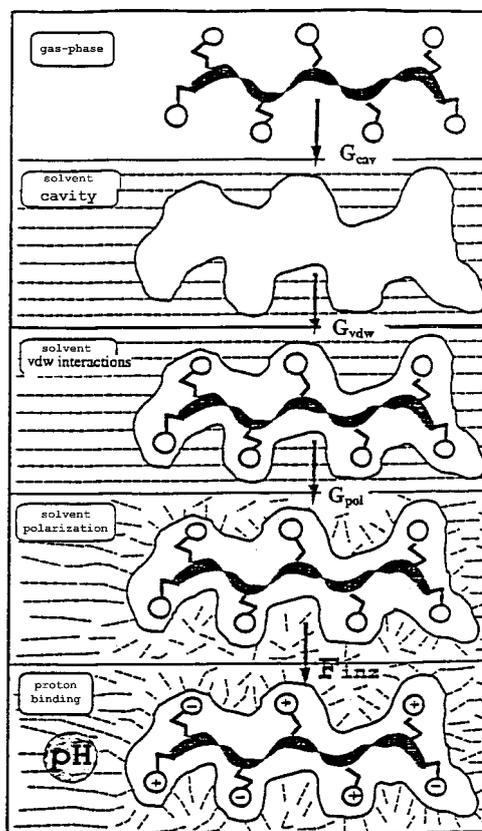


Рис. 5-5

Свободная энергия растворения = сумма работ на каждой стадии

$$\Delta G_{\text{soln}} = \Delta G_{\text{cav}} + \Delta G_{\text{vdw}} + \Delta G_{\text{polz}}$$

## Свободная энергия макромолекулы в растворе

### Микроскопическое рассмотрение

Свободную энергию  $F_A$  макромолекулы, с координатами атомов  $\mathbf{x}$ , в конформации  $A$  в растворе – это энергия системы относительно невозмущенного раствора. Конфигурационная статистическая сумма  $Z$  макромолекулы в среде,

$\mathbf{x}$ , координаты атомов макромолекулы,  $\mathbf{y}$  координаты молекул растворителя, является отношением статистических сумм макромолекула + раствор и чистого растворителя

$$Z = \frac{\int d\mathbf{x} \int d\mathbf{y} \exp\{-\beta [U_m(\mathbf{x}) + U_{m,s}(\mathbf{x}, \mathbf{y}) + U_s(\mathbf{y})]\}}{\int d\mathbf{y} \exp\{-\beta U_s(\mathbf{y})\}}$$

где  $\beta=1/kT$ ,  $U_m(\mathbf{x})$ - внутренняя потенциальная энергия,  $U_{m,s}(\mathbf{x}, \mathbf{y})$ - потенциальная энергия взаимодействий макромолекулы с раствором,  $U_s(\mathbf{y})$ - потенциальная энергия растворителя.

Статистическая сумма  $Z$  может быть представлена как статистическая сумма для внутренней энергии молекулы  $U_m(\mathbf{x})$ - и энергии  $W(\mathbf{x})$  взаимодействия макромолекулы с раствором

$$Z = \int d\mathbf{x} \exp\{-\beta [U_m(\mathbf{x}) + W(\mathbf{x})]\}$$

где,  $W(\mathbf{x})$  - это потенциал средней силы взаимодействия, равный свободной энергии сольватации макромолекулы

$$\exp[-\beta W(\mathbf{x})] = \frac{\int d\mathbf{y} \exp\{-\beta [U_{m,s}(\mathbf{x}, \mathbf{y}) + U_s(\mathbf{y})]\}}{\int d\mathbf{y} \exp\{-\beta U_s(\mathbf{y})\}}$$

$$\Delta G_{\text{solv}}(\mathbf{x}) = W(\mathbf{x})$$

**микроскопически точное** выражение для свободной энергии  $F_A$  в конформации  $A$

$$F_A = -kT \ln Z = \langle U_m(\mathbf{x}) \rangle_A + \langle \Delta G_{\text{solv}}(\mathbf{x}) \rangle_A - TS_A$$

где  $\langle \rangle_A$ , среднее по микросостояниям  $\{\mathbf{x}\}_A$  и  $S_A$ , внутренняя энтропия макромолекулы по этим микросостояниям конформации  $A$

**Расчет каждого члена ур-я для свободной энергии ?**

$\langle \rangle_A$  - получить репрезентативный набор микросостояний (мгновенных структур  $\mathbf{x}$ ) наблюдаемой макро-конформации  $A$

$\langle U_m(\mathbf{x}) \rangle_A$  – средняя внутренняя потенциальная энергия

$\langle \Delta G_{\text{solv}}(\mathbf{x}) \rangle_A$  - средняя энергия сольватации

$S_A$  - конформационная энтропия

## Представления растворителя –

- явное молекулярное
- в виде физических моделей

явное молекулярное = рассматривается расширенная система =

супермолекула = макромолекула + молекулы растворителя

вычислительно ёмкая  
процедура –  
не применяется для расчета  
энергии сольватации  
макромолекул

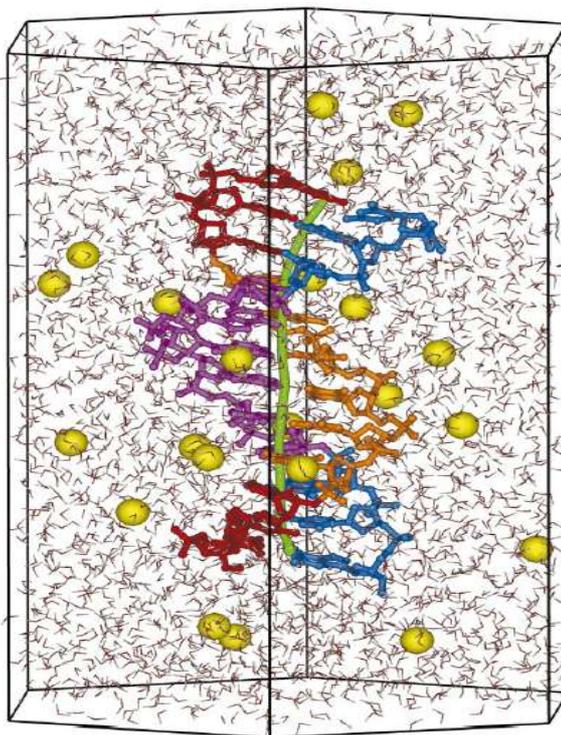


Рис. 5-6 ДНК дуплекс в явной воде с  
нейтрализующими противоионами

**Физические модели  
(не явные) растворителя**

**модель SAS**

$$\Delta G_{\text{solv}} = \sum_i \text{SAS}_i \Delta g_{\text{solv } i}$$

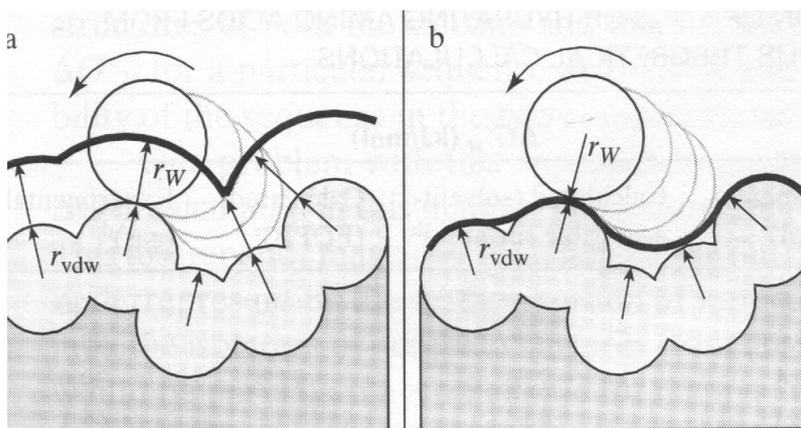
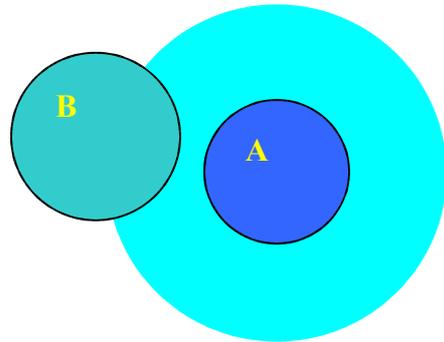


Рис. 5-7.

## модель гидратных оболочек

атомы имеют гидратные оболочки с распределенной плотностью энергии гидратации – модель гауссовских гидратных оболочек

окружающие атомы вытесняют раствор из гидратной оболочки атома А



$$\Delta g_i = \Delta g_i^0 - \sum_j f_i(r_{ij}) V_j$$

функция  $f_i(r)$  описывает распределение плотности энергии гидратации атома  $i$  от расстояния от атома

$$f_i(r) = \frac{\Delta g_i^0}{2\pi^{3/2} \lambda_i} \exp\left(-\left[\frac{r - R_i}{\lambda_i}\right]^2\right)$$

для каждого сорта атомов имеются параметры

$$\Delta g_i^0, R_i, \lambda_i, V_i \quad \{T.Lazaridis, M.Karplus \textit{ Proteins 1999, v.35, 133-152}\}$$

$\Delta g_i^0$  - полная энергия гидратации атома,

$R_i$  - радиус атома (ван дер ваальсов)

$V_i$  - объем атома (ван дер ваальсовой сферы)

$\lambda_i$  - размер гидратной оболочки  $\sim 3 \text{ \AA}$

**Параметры моделей оптимизируются** согласованием расчетов по модели с экспериментальными данными для репрезентативного набора малых молекул

- **удовлетворительно работают для нейтральных (не заряженных) молекул**

## Модель диэлектрических сред

- наиболее полная и корректная модель

Транспорт газ → три стадии

$$\Delta G_{\text{solv}} = \Delta G_{\text{cav}} + \Delta G_{\text{vdw}} + \Delta G_{\text{polz}}$$

$\Delta G_{\text{cav}} = \gamma S_{\text{cav}}$  - экспериментальные данные по энергиям растворения углеводородов

- эксперименты по образованию воздушных пузырьков в воде
- теория масштабной частицы в теории жидкости
- микроскопическое симулирование энергии образования полости в молекулярной воде

$$\gamma_{\text{mic}} = \gamma_{\text{mac}} \langle S_{\text{cav,mac}} / S_{\text{cav,mic}} \rangle = 70 \text{ cal/mol}\text{\AA}^2$$

отношение макроскопической плоской площади поверхности к микроскопической поверхности полости в воде в виде плотно-упакованных шаров

$$\langle S_{\text{cav,mac}} / S_{\text{cav,mic}} \rangle = 0.70$$

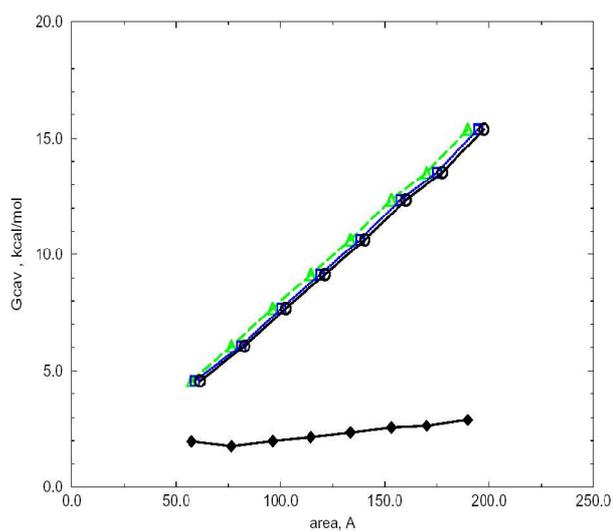


Рис. 5-8. Энергия образования полости  $G_{\text{cav}}$  - (○). для гидрокарбонатов - *methane, ethane, n-butane, propane, n-pentane, n-hexane, n-octane*), (●) – полные энергии сольватации, экспериментальные данные, [Ben-Naim, 1984 *J. Chem. Phys.* 81:2016-2027 ]

## **Ван дер ваальсовы взаимодействия макромолекула – водный растворитель**

$\Delta G_{\text{vdw}} = \langle U_{\text{mol-water}} \rangle$  - взаимодействия короткодействующие –  
1 гидратный слой 80%

$$\Delta G_{\text{vdw}} \cong \gamma_{\text{vdw}} S_{\text{cav}}$$

$\gamma_{\text{vdw}} \cong -30 \text{ cal/mol}\text{\AA}^2$  - для молекул белков

## Энергия поляризации раствора

Энергия заряжения молекулы = энергия поляризации водного раствора зарядами атомов макромолекулы

$$G_{pol}(\mathbf{x}) = \frac{1}{2} \sum_i q_i \left\{ \int \frac{\langle \rho_{qsolv}(\mathbf{r}) \rangle d^3\mathbf{r}}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}_i|} \right\}$$

средний поляризационный потенциал среды – потенциал реакции может быть вычислен в рамках классической электростатики в модели диэлектрических сред

**Макроскопическая электростатика** с позиционно-зависимой диэлектрической константой описывает электростатический потенциал в среде уравнением **Пуассона**

$$\nabla \varepsilon(\mathbf{r}) \nabla \Phi(\mathbf{r}) = -4\pi \sum q_i \delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_i)$$

с позиционно зависимой диэлектрической константой  $\varepsilon(\mathbf{r})$

$$\varepsilon(\mathbf{r}) = \varepsilon_M + \rho_s(\mathbf{r}) (\varepsilon_s - \varepsilon_M) / \rho_s(\text{bulk})$$

Плотность поляризационного заряда в среде  $\langle \rho_{qsolv}(\mathbf{r}) \rangle$  - заряды на молекулярной поверхности – границе раздела диэлектрических сред

$$4\pi \langle \rho_{qsolv}(\mathbf{r}) \rangle = \text{div} (\varepsilon(\mathbf{r}) - 1) \nabla \Phi(\mathbf{r}) = 4\pi \sigma(\mathbf{s})$$

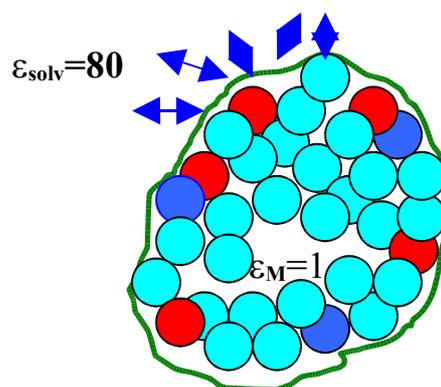
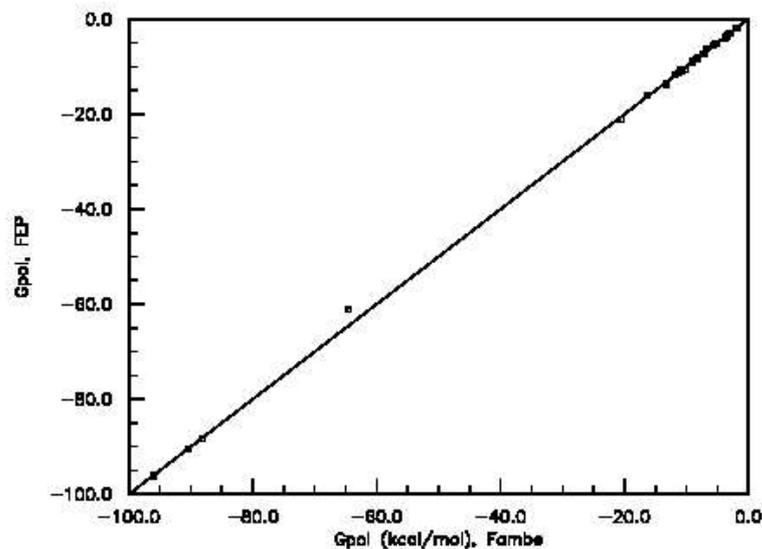


Рис. 5-9

## Метод диэлектрических сред - уравнение Пуассона

- ошибка 1-3% ошибка от более точных микроскопических методов, которые в  $10^3$  раз вычислительно более громоздки.



Корреляция энергий поляризации метода Пуассона с энергиями поляризации микроскопического метода заряжения для боковых групп белков

## Эмпирические параметры метода ДС-УП

- радиусы атомов для определения молекулярной поверхности раздела диэлектрических сред  $\{R_{bi}\}$
- $\{R_{bi}\}$  – оптимизируются согласованием расчетов методом УП с экспериментальными данными

[ M.Nina, et al. Bioph.Chem.1999, v.78, p.89-96]

## Обобщенная модель Борна

### Свободная энергия поляризации раствора

$$G_{pol}(\mathbf{x}) = \left( \frac{1}{\varepsilon_s} - \frac{1}{\varepsilon_M} \right) \left( \frac{1}{2} \sum_i \frac{q_i^2}{R_{Bi}} + \sum_{i,j} \frac{q_i q_j}{f_{GB}(x_{ij})} \right)$$

эмпирическая интерполяционная функция

$$f_{GB}(x_{ij}) = \left( x_{ij}^2 + R_{Bi} R_{Bj} \exp[-x_{ij}^2 / 4 R_{Bi} R_{Bj}] \right)^{1/2}$$

выбрана так чтобы правильно описывать точную (УП) поляризационную энергию пары зарядов при малых расстояниях между зарядами

$$x < 0.1 (R_{Bi} R_{Bj})^2$$

и больших расстояниях

$$x > 2.5 (R_{Bi} R_{Bj})^2$$

## эффективные Борновские радиусы атомов $R_{Vi}$

вычисляются для каждого заряженного атома макромолекулы по его парциальной поляризационной энергии

$$G_{pol,i}(\mathbf{x}) = \left( \frac{1}{\epsilon_S} - \frac{1}{\epsilon_M} \right) \frac{1}{2} \frac{q_i^2}{R_{Vi}}$$

величины  $G_{pol,i}$  вычисляются решением УП для заданной конформации макромолекулы

$R_{Vi} = R_{Vi}(\mathbf{x})$  - зависят от конформации макромолекулы –

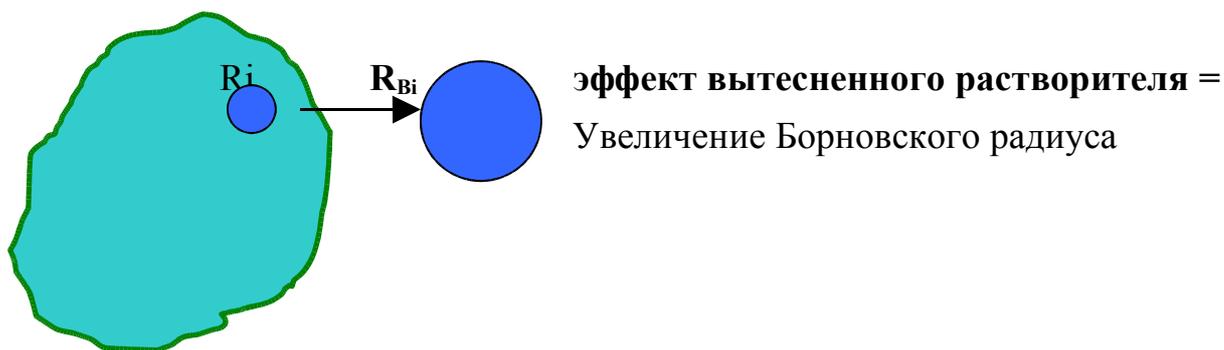


Рис. 5-10.

**Обобщенный метод Борна эффективен** при оптимизации конформации макромолекулы и стохастическом моделировании – МД,МК

$R_{Vi} = R_{Vi}(\mathbf{x})$  меняются медленно при изменении конформации  
пересчет (уточнение) может выполняться с низкой частотой

## Конформационная энтропия $S_A$

макроскопической, **устойчивой** конформации  $A$

ППЭ – положительно определенная квадратичная форма в пространстве координат атомов

$$U(\mathbf{x}) = (1/2)\Delta\mathbf{x}\mathbf{K}\Delta\mathbf{x}'$$

$\Delta\mathbf{x}$  – отклонение от точки локального минимума ППЭ

Движение по  $\mathbf{x}_i$  - колебательное

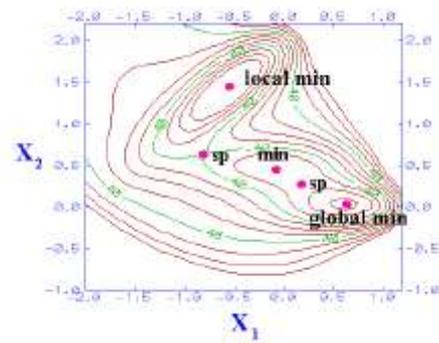


Рис. 5-11.

**Квазигармоническое приближение** – движение атомов как суперпозиция гармонических осцилляторов

## Одномерный осциллятор

$$U(x) = (1/2)Kx^2$$

$$Z = \int_{-\infty}^{\infty} \exp\left(-\frac{u(x)}{kT}\right) dx = \left(\frac{2\pi kT}{K}\right)^{1/2}$$

$$\langle U \rangle = \frac{1}{Z} \int_{-\infty}^{\infty} u(x) \exp\left(-\frac{u(x)}{kT}\right) dx = \frac{1}{2}kT$$

$$\langle x^2 \rangle = \frac{kT}{K}$$

## Статсумма и энтропия

$$Z = (2\pi)^{1/2} \langle x^2 \rangle^{1/2}$$

$$S = k \ln Z + \frac{\langle u \rangle}{T} = k \ln[\langle x^2 \rangle^{1/2}] + k \ln(2\pi e)^{1/2}$$

**энтропия** определяется величиной среднеквадратичной амплитуды колебаний

$$S = k \ln[\langle x^2 \rangle^{1/2}] + S_0$$

## **Макромолекула – набор не взаимодействующих гармонических осцилляторов**

- нормальные моды (колебания)

### **Как их получить?**

#### **Матрица позиционных флуктуаций**

$$C_{ij} = \langle (x_i - \langle x_i \rangle) (x_j - \langle x_j \rangle) \rangle_A$$

$x_i$  - атомные координаты вдоль МД траектории или МК реализации.

### **Нормальные моды**

Диагонализация матрицы  $C_{ij} \rightarrow \Lambda_{ii}$

- размерность  $3N$
- $(3N-6)$  нормальных мод
- собственные значения -  $\lambda_i$   
= средний квадрат амплитуды нормальной моды
- собственные вектора  $\chi$  для каждого собственного значения  
= вектора направлений колебания каждого атома

**Энтропия = сумма энтропий нормальных мод – одномерных осцилляторов**

$$S = \sum_i \frac{1}{2} k \ln[\lambda_i] =$$

$$= \frac{1}{2} k \ln[\prod \lambda_i] = \frac{1}{2} k \ln[\det \Lambda] = \frac{1}{2} k \ln[\det C]$$

**Вторая возможность –**

-расчет частот нормальных мод -  $\omega_i$

диагонализацией массовой матрицы позиционных флуктуаций  $\rightarrow \lambda_i$

$$C_{ij} = M_i^{1/2} \langle (x_i - \langle x_i \rangle) (x_j - \langle x_j \rangle) \rangle M_j^{1/2}$$

$$\omega_i = kT/\lambda_i$$

- использование квантовомеханической формулы для энтропии осциллятора

$$TS_A = k \sum_i \left\{ - \ln[1 - \exp(-\hbar\omega_i / kT)] + \frac{\hbar\omega_i / kT}{\exp(\hbar\omega_i / kT) - 1} \right\}$$

**расчет по частотам боле точен**