

ANÁLISIS DINÁMICO DE LOS DISACÁRIDOS TREHALOSA, SACAROSA Y MALTOSA EN SOLUCIONES ACUOSAS DILUIDAS

Pamies, Silvana C.; Petelski, André N.; Gomez Viana, Rodrigo; Rolón, Raul V. y Sosa, Gladis Laura

Laboratorio de Química Teórica y Experimental-QuiTEx, Departamento de Química, Facultad Regional Resistencia, Universidad Tecnológica Nacional, French 414 (H3500CHJ) Resistencia (Chaco). Argentina. glsosa@frre.utn.edu.ar

INTRODUCCIÓN

La preservación de materiales biológicos es de gran interés para las industrias farmacéutica, cosmética y alimenticia¹⁻⁴. El agregado de agentes estabilizantes es una estrategia ampliamente utilizada para aumentar la estabilidad de estos materiales durante su procesado y almacenamiento. Entre los estabilizantes más utilizados se encuentran los disacáridos, trehalosa, sacarosa y maltosa. El mecanismo molecular mediante el cual estos azúcares son capaces de estabilizar y proteger biomoléculas lábiles no es totalmente comprendido y continúa siendo objeto de numerosas investigaciones⁴⁻⁶. Estas investigaciones están dirigidas particularmente a desentrañar cuáles son los factores que determinan las propiedades superiores de la trehalosa como bioprotector. Con el propósito de contribuir a este conocimiento, en este trabajo se realizan simulaciones de dinámica molecular sobre soluciones acuosas diluidas de los disacáridos trehalosa, sacarosa y maltosa. Las interacciones no covalentes se analizan sobre las trayectorias de la DM y también, desde un punto de vista estático, mediante un análisis topológico de la densidad de carga basado en la teoría cuántica de Átomos en Moléculas (QTAIM) de Bader⁷.

DETALLES COMPUTACIONALES

La estructura de los disacáridos, obtenidas de fuentes cristalográficas, fueron optimizadas y las cargas atómicas fueron calculadas con el método RESP al nivel HF/6-31G* con Gaussian 03. Cada sistema fue construido solvatando una única molécula de azúcar con 200 moléculas de agua TIP3P. Las simulaciones de DM, realizadas con el paquete AMBER 11, fueron precedidas por 2 etapas de minimización energética. El sistema resultante de mínima energía potencial fue sometido a una termalización durante 500 ps. Luego se continuó esta etapa en el ensamble NPT a 300 K y a una P de 1 atm durante 10 ns hasta alcanzar el equilibrio. La recolección de datos se realizó en el ensamble NVT usando un acoplamiento débil de temperatura durante 25 ns.

El análisis de las interacciones moleculares, fue realizado sobre estructuras recolectadas en los últimos 500 ps de la etapa de producción y fueron analizadas con el programa MultiWFN. Las funciones de onda se obtuvieron con el programa Gaussian 03 al nivel B3LYP/6-31G*.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La movilidad conformacional de los azúcares se analizó mediante la trayectoria de los ángulos de torsión definidos como: como: $\Phi = \text{O5-C1-O1-C1}'$ y $\Psi = \text{C1-O1-C1}'-\text{O5}'$; los que involucran a grupos hidroximetilos: $\omega = \text{O5-C5-C6-O6}$ y $\omega' = \text{O5}'-\text{C5}'-\text{C6}'-\text{O6}'$; $\theta =$ ángulo de enlace glicosídico, $\text{C1-O1-C1}'$. En la tabla 1, se muestran los resultados del análisis estadístico. Estos resultados muestran que la trehalosa es la estructura más rígida en torno al enlace glicosídico y la sacarosa la más flexible.

Tabla 1. Estadística de los parámetros geométricos calculados a lo largo de los 25 ns de DM.

Angulo	Estadística	Trehalosa	Sacarosa	Maltosa
Φ	Promedio	62.0	117.0	57.8
	% ocupancia	99.5	65.6	95.1
	Std. Desv.	10.2	19.1	10.0
Ψ	Promedio	62.1	20.9	126.4
	% ocupancia	99.4	65.5	95.8
	Std. Desv.	10.3	12.7	8.0
ω	Promedio	65.8	63.5	-63.2
	% ocupancia	65.2	71.8	64.6
	Std. Desv.	11.5	12.7	10.6
ω' / χ^f	Promedio	65.8	58.7	-63.7
	% ocupancia	66.2	99.4	81.5
	Std. Dev.	11.8	11.6	9.7
θ	Promedio	115.3	119.7	118.1
	Std. Desv.	3.5	3.2	3.3

El grado de solvatación de los disacáridos se obtuvo mediante las funciones de distribución radial. Los resultados muestran una hidratación hidrofílica típica, con una capa de hidratación bien definida excepto para los oxígenos endocíclicos. Respecto a los O glicosídicos se observa una hidratación prácticamente nula en la trehalosa y sacarosa, mientras que la maltosa presenta un número de hidratación cercano a 1.

En la Figura 2 se muestran los resultados del seguimiento de los enlaces de hidrógeno (EH) con el módulo ptraj del paquete AMBER 11. Los análisis muestran claramente que la trehalosa forma menos EHs con el agua que la sacarosa y la maltosa; además de ser los enlaces más débiles, en términos de tiempos de vida media y % de ocupancia, entre los tres azúcares.

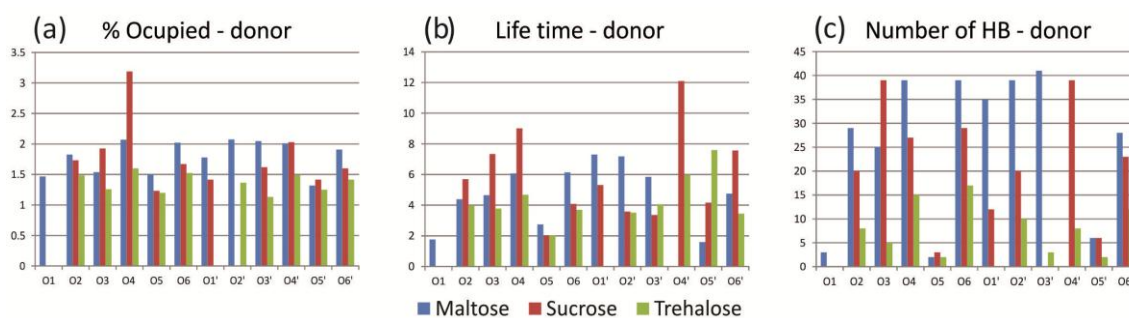


Figure 2. % de ocupancia, tiempos de vida media y número de EHs.

Finalmente, los EH intramoleculares se analizaron mediante el seguimiento de la distancia interatómica entre $O_{\text{azúcar}} \dots O_{\text{agua}}$ durante los 25 ns de producción y también mediante un análisis QTAIM sobre estructuras rodeadas de moléculas de agua recolectadas de la DM (ver Figura 2). Sorprendentemente, en el caso de la trehalosa, no se encuentran EHs intermoleculares con el agua que involucren a los oxígenos O2, O2', O6 y O6' encontrados en fase gaseosa en el dihidrato y en la forma anhidra. En cambio, el EH intramolecular, C5'-H...O2 siempre ocurre.

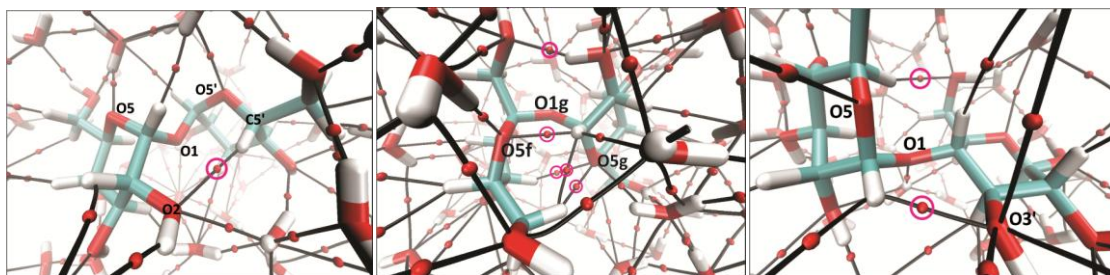


Figura 3. Grafos moleculares de los azúcares rodeados de agua. Con esferas rojas se señalan los puntos críticos de enlaces no covalentes y en círculos rosados los EH intramoleculares.

CONCLUSIONES

Los resultados muestran una rigidez superior en la trehalosa. Asimismo es el disacárido que forma menos EHs con el agua y EHs intramoleculares, remarcando así un comportamiento particular en contraposición con la sacarosa y maltosa que tienen comportamientos similares. Los resultados obtenidos también sugieren que la interacción intramolecular C5'-H...O2 siempre observada en la trehalosa, podría mediar el plegamiento de la molécula (la estructura se cierra y protege al enlace glicosídico otorgándole rigidez). Es también probable que el mecanismo de bioprotección de la trehalosa que opera en soluciones concentradas sea diferente.

REFERENCIAS

- (1) Crowe, L. M. *Comp. Biochem. Phys. A* 2002, 131, 505–13.
- (3) Crowe, J. H.; Oliver, A. E.; Tablin, F. *Integr. Comp. Biol.* 2002, 42, 497–503.
- (4) Lee, S. L.; Hafeman, A. E.; Debenedetti, P. G.; Pethica, B. A.; Moore, D. J. *Ind. Eng. Chem. Res.* 2006, 45, 5134–5147.
- (5) Nakagaki, M.; Nagasse, H.; Ueda, H. *J. Membr. Sci.* 1992, 73, 173–180.
- (6) Green, J. L.; Angell, C. A. *J. Phys. Chem.* 1989, 93, 2880–2882.
- (7) Bader RFW. *Atoms in molecules: a quantum theory.* (1990) Clarendon Press, Oxford.