계산화학적 방법을 통한 β -D-glucopyranose 구조 연구

양지현 · 김진아 · 이상민 · 안익성* · 민병진†,*

연세대학교 화공생명공학과

†배재대학교 분자과학부

(접수 2013. 3. 19; 게재확정 2013. 9. 11)

Computational Studies of the β -D Glucopyranose Structure

Ji-hyun Yang, Jinah Kim, Sangmin Lee, Ik-sung Ahn*, and ByungJin Mhin†,*

Department of Chemical and Biomolecular Engineering, Yonsei University, Seoul 120-749, Korea. *E-mail: iahn@yonsei.ac.kr

†Department of Chemistry, PaiChai University, Daejeon 302-735, Korea. *E-mail: mhin@pcu.ac.kr

(Received March 19, 2013; Accepted September 11, 2013)

요 약. 본 연구에서는 β -D-glucopyranose 분자의 hydroxymethyl group의 두 torsion angle의 변화에 따른 포텐셜 에너지의 변화를 진공 상태와 implicit water 상태에서 연구하였으며 이를 통해 Solvation Energy가 구조에 미치는 영향에 대해서 알아보았다. 계산에 사용한 프로그램은 AMBER package였으며, force field는 GLYCAM_06을 사용하였다. Solvation model은 Hawkins, Cramer, Truhlar 등이 제안한 generalized Born model을 사용하였다. 계산 결과, methyl hydroxyl group 내의 hydroxyl group이 고리구조의 hydroxyl group과 강한 수소결합이 가능한 영역에서 많은 변화가 일어났다. 이를 통해 solvation effect로 인해서 수소 결합의 중요성이 감소했다는 결론을 내렸다.

주제어: β -D-glucopyranose, MD 시뮬레이션, 용매화 효과, 구조

ABSTRACT. In this study, we have investigated potential energy of β -D-glucopyranose in vacuum and implicit water condition. By Comparing two conditions we find that how solvation energy influence β -D-glucopyranose structure. We use AMBER package program and GLYCAM_06 force field. Solvation model was used for the generalized Born model with Hawkins, Cramer, Truhlar has been proposed. We conclude that difference of contour map of two conditions is caused by solvation effect by reducing hydrogen bonding interaction.

Key words: β -D-glucopyranose, MD simulation, Solvation effect, Conformation

서 론

지구온난화의 주범으로 화석연료 사용에 따른 이산화탄소 발생을 꼽고 있다. 이를 해결하기 위해 바이오매스 등의 대체에너지원에 대한 관심이 날로 높아지고 있다. 셀룰로오스는 자연에 존재하는 바이오매스 중 가장 큰 비중을 차지하고 있는, β -D-glucopyranose를 단량체로 하는 선형고분자이다. 셀룰로오스를 대체 에너지원 및 석유 화학산업의 원료를 대체하는 물질로 전환시키기 위해 셀룰로오스의 당화 연구가 진행되어 왔다. 셀룰레이즈 등의 효소를 이용한 생물학적 당화는 저에너지 소요 등 환경 친화적 방법으로 각광받고 있다. 그러나 셀룰로오스의 비수용성은 이러한 생물학적 셀룰로오스 당화 과정의 걸림돌이 되고 있다.^{1,2}

최근 십수년 동안 셀룰로오스의 비수용성의 원인을 규명하고자 하는 연구들이 진행되어 왔다. 이 연구들은 분

자 수준의 수소 결합 네트워크와 소수성 상호작용을 셀룰로오스 비수용성의 원인으로 제시하고 있다.³⁻⁷ 셀룰로오스의 수소 결합 네트워크는 셀룰로오스 내 β -D-glucopyranose 단량체가 갖고 있는 hydroxymethyl group의 conformation에 의해 변화한다. 따라서 β -D-glucopyranose 내의 hydroxymethyl group의 conformation에 따른 포텐셜 에너지 변화를 살펴봄으로써 셀룰로오스 내 hydroxymethyl group의 conformation에 의한 수소 결합 네트워크 변화와 그에 따른 셀룰로오스 구조 에너지 변화를 추론할 수 있다.

Glucopyranose 내 hydroxymethyl group의 conformation은 C5-C6 (Fig. 1 참조)의 비틀림 각에 따라 세 개의 conformations으로 나누어진다. Conformer들은 C6-O6 bond의 C5-O5 및 C4-C5 bond에 대한 방향에 의해 이름지어진다: Trans-gauche (tg), gauche-gauche (gg), gauche-trans (gt). NMR 분석에 의하면 solvation 상태에서의 gg/gt/tg population은 53/45/2%로 나타난다.⁸ Brown과 Wladkowski는 MP2/6-

Figure 1. Structure of β -D-glucopyranose(τ_1 : C2-C1-O1-HO1, τ_2 : C3-C2-O2-H, τ_3 : C4-C3-O3-H, τ_4 : C5-C4-O4-H, τ_6 : C5-C6-O6-H, ω : O5-C5-C6-O6).

31G* ab initio method를 통해서 conformation들의 포텐셜 에너지를 계산하였으며 $gg < tg < gt$ 순으로 나타났다.⁹ gg 와 gt 사이의 rotational energy barrier는 6.8~6.9 kcal/mol, gt 와 tg 사이는 4.7~5.5 kcal/mol, gg 와 tg 사이는 3.6~3.8 kcal/mol로 계산되었다. solvation 상태에서는 포텐셜 에너지가 $gg < gt < tg$ 순으로 나타나 NMR 실험 결과와 일치함을 보였다. Cramer와 Truhlar는 glucopyranose의 solvation effect에 대해 연구하였다.¹⁰ 그들은 연구를 통해서 glucopyranose가 진공상태에서는 tg 형태가 우세하지만 implicit water 상태에서는 solvation effect에 의해서 gg 와 gt 형태가 우세하게 된다는 것을 밝혔다. 이러한 연구들의 결론은 solvation effect에 의해서 solvation 상태에서는 tg 형태가 상대적으로 불안정해진다는 것이다. 그 이유는 용매가 tg 형태의 안정성에 기여하는 수소 결합을 약화시키기 때문이다.¹⁰ 기존 연구들에서는 β -D-glucopyranose의 minimum 구조 및 transition state 상태만을 대상으로 연구를 하였다. 그러나 본 연구에서는 hydroxymethyl group의 ω , τ_6 dihedral angle에 대한 Potential energy contour map을 작성함으로써 단순히 minimum 구조에 대해서 분석하는 것이 아니라 구조 변화과정에서의 solvation effect를 확인하고 β -D-glucopyranose가 진공 상태에서 수용액 상태로 바뀔 때에 potential energy가 어떻게 변화하는지 살펴보고 그 이유에 대해서 논의하였다.

실험 방법

β -D-glucopyranose 내 hydroxyl methyl group의 dihedral angle (ω , τ_6)에 따른 2차원 potential energy contour map을 구하기 위해서 다음과 같이 계산을 수행하였다. 컨투어 맵의 두 축이 되는 1을 만들었다(ring 외부의 single bond는 60° , 180° , 300° 에서 minimum 구조가 가능).

Amber molecular dynamics package (version 11) 프로그램을 사용하여 Minimization을 수행하였다.¹¹ Force field로는 GLYCAM_06 force field를 사용하였다.¹² (Topology 파일 생성시에 SCEE와 SCNB 값으로 각각 1.0을 할당하였다).

Minimization method로는 Full conjugate gradient minimization method를 사용하였으며, τ_6 , ω dihedral angle을 고정시키기 위해서 두 dihedral angle에 대해서 1000 kcal/mol의 restraint weight를 주었다. Non-bonded cutoff 값은 999 Å으로 설정하였다. Electrostatic interactions에 대한 Dielectric multiplicative constant 값은 1.0으로 두었다. Implicit water 상태의 minimization에서는 implicit solvation model로서 Hawkins, Cramer, Truhlar 등이 제안한 generalized Born model을 사용하였다.¹³⁻¹⁵

위에서 언급한 바와 같이, 특정 ω 와 τ_6 ($19 \times 19 = 361$ 가지 경우)에서 81개의 초기 minimum 구조에 대한 minimization을 수행한 후 가장 낮은 에너지 값들을 추출하여 Potential Energy contour map을 작성하였다. 가장 안정할 것이라고 추측되는 (τ_1 , τ_2 , τ_3 , τ_4 dihedral angle이 모두 180° 인 구조)에 대한 minimization을 수행한 결과를 사용하여 Potential Energy contour map을 작성한 것과, 앞선 Potential Energy contour map을 비교하였다. Potential Energy contour map 작성에 사용한 프로그램은 Surfer 10 (Golden Software, Inc.)였다.¹⁶ Gridding method로는 minimum curvature method를 사용하였으며, Global minimum energy 값에 대한 potential energy 차이(ΔE) (식 1 참조)를 계산하여 Potential Energy contour map을 작성하였다.

$$\Delta E = E - E_{\text{global.min}} \quad (1)$$

여기서, $E_{\text{global.min}}$ 는 vacuum 상태와 implicit water 상태 각각의 global minimum 구조에서의 potential energy로서 그 값은 각각 118.73 kcal/mol, 84.87 kcal/mol이다. Solvation Energy ($E_{\text{solvation}}$)는 vacuum 상태와 implicit water 상태에서의 potential energy 차이로 정의하였다.

$$E_{\text{solvation}} = E_{\text{implicit}} - E_{\text{vacuum}} \quad (2)$$

여기서, E_{vacuum} 는 진공상태에서의 potential energy, E_{implicit} 는 implicit water 상태에서의 potential energy이다. $E_{\text{solvation}}$ 은 -29.83 kcal/mol ~ -39.84 kcal/mol의 값을 가진다. 다음과 같이 Solvation energy difference ($\Delta E_{\text{solvation}}$)를 정의하였다.

$$\Delta E_{\text{solvation}} = E_{\text{solvation}} - E_{\text{solvation.min}} \quad (3)$$

결과 및 분석

Fig. 2는 vacuum에서, 각 ω 와 τ_6 값에 대한 81개의 초기 minimum 구조에 대한 minimization을 수행한 후, 가장 낮은 에너지 값들만을 추출하여 작성한 Potential Energy contour map이다. (ω , τ_6) = (-60° , -60°), (-60° , 60°), (-60° , 180°), (60° , -60°), (60° , 60°), (60° , 180°), (180° , 60°), (180° , 180°) 근처에서 8개의 local minimum들이 나타났다. (ω , τ_6) = (180° ,

Figure 2. Potential Energy Contour Map of β -D-glucopyranose in vacuum prepared through the minimization of the 81 initial structures at each ω and τ_6 .

Figure 3. Local minimum in vacuum.

-60°) 근처에서는 C5의 H와 O6의 H 사이 repulsion으로 인해서 local minimum이 나타나지 않아 9개의 local minimum이 나타나리라는 예상을 벗어났다. 각 영역에서의 minimum 구조를 Fig. 3에 나타내었다.

Global minimum은 $\omega=180^\circ$, $\tau_6=60^\circ$ 부근(tg conformation)에서 발견되었다. Dihedral angle만 고려한다면 gg conformation이 가장 안정하여야 하지만 tg conformation에서 강한 수소결합이 존재하기 때문에 global minimum의 위치가 tg

Figure 4. Potential Energy Contour Map of β -D-glucopyranose in vacuum prepared through the minimization of the initial structure with τ_1 , τ_2 , τ_3 , and τ_4 fixed at 180° .

Figure 5. Two Structures in $\omega=180^\circ$, $\tau_6=180^\circ$ according to $\tau_1 \sim \tau_4$ orientation.

영역에서 나타났다고 사료된다. $\omega=180^\circ$, $\tau_6=180^\circ$ 근처 영역에서 나타나는 local minimum을 제외한다면, 나머지 local minimum들 사이의 에너지 장벽은 5 kcal/mol 이내이다. tg form과 gg form, gg form과 gt form, 그리고 gt form과 tg form 사이의 에너지 장벽이 5 kcal/mol 이내가 되는 것이다.

τ_1 , τ_2 , τ_3 , τ_4 dihedral angle이 180° 인 초기 구조를 바탕으로 minimization하여 작성한 potential energy contour map을 Fig. 4에 나타내었다. Fig. 2에 나타났던 $\omega=180^\circ$, $\tau_6=180^\circ$ 근처의 local minimum이 Fig. 4에서는 보이지 않았다. 이는 τ_1 , τ_2 , τ_3 , τ_4 값이 모두 180° 인 초기 구조에서는 O4-H와 O6간의 수소 결합이 사라지기 때문이다. Fig. 2의 $\omega=180^\circ$, $\tau_6=180^\circ$ 근처의 local minimum 구조(Fig. 3 참조)에서, O4-H와 O6간의 수소 결합이 사라지는 변화를 Fig. 5에 나타내었다. 사라진 local minimum은 5 kcal/mol의 에너지 장벽 영역 내에 존재하지 않고, 에너지가 다른 local minimum에 비해 상대적으로 높으므로(Fig. 2 참조) 중요도가 낮다. 따라서 81개의 초기 minimum 구조 대신 한 개의 초기 minimum

Figure 6. Potential Energy Contour Map of β -D-glucopyranose in implicit water prepared through the minimization of the initial structure with τ_1 , τ_2 , τ_3 , and τ_4 fixed at 180° .

Figure 7. Potential Energy Contour Map of β -D-glucopyranose in implicit water prepared through the minimization of the initial structure with τ_1 , τ_2 , τ_3 , and τ_4 fixed at 180° .

구조를 바탕으로 적은 시간 동안 minimization을 수행하여 얻은 Potential Energy contour map 역시 유용하다고 사료된다.

Fig. 6는 implicit water 상태에서, 각 ω 와 τ 값에 대한 81개의 초기 minimum 구조에 대한 minimization을 수행한 후, 가장 낮은 에너지 값들만을 추출하여 작성한 Potential

Energy contour map이다. Fig. 2와 같이 $(\omega, \tau) = (-60^\circ, -60^\circ)$, $(-60^\circ, 60^\circ)$, $(-60^\circ, 180^\circ)$, $(60^\circ, -60^\circ)$, $(60^\circ, 60^\circ)$, $(60^\circ, 180^\circ)$, $(180^\circ, 60^\circ)$, $(180^\circ, 180^\circ)$, $(180^\circ, -60^\circ)$ 근처에서 8개의 local minimum들이 나타났다. Global minimum은 $\omega=60^\circ$, $\tau=-60^\circ$ 부근 (gt conformation)에서 발견되었다. Local minimum들 사이의 에너지 장벽은 4 kcal/mol 이내이다. implicit water 상태에서도 τ_1 , τ_2 , τ_3 , τ_4 dihedral angle이 180° 인 초기 구조를 가지고 minimization 하여 potential energy contour map을 작성하였다(Fig. 7 참조). In vacuum이나 in implicit water 모두에서, 81개의 초기 구조 대신 1개의 초기 구조에서 시작한 minimization으로 거의 같은 potential energy contour map을 얻을 수 있었다. 이는 OH group의 orientation이 구조 에너지에 미치는 영향이 크지 않다는 점을 보여준다.

Fig. 2와 Fig. 6를 비교했을 때 주목할 만한 차이점이 존재한다. 첫째로, global minimum의 위치가 변화하였다. 진공 안에서는 tg conformation이 가장 안정한 구조였으나, solvation 상태에서는 gt conformation이 가장 안정한 구조로 나타났다. 둘째로 안정한 구조들 사이의 path가 달라졌다. 진공 상태에서는 tg form에서 gg form으로 직접 이동하는 경로가 존재했지만 solvation 상태에서는 이 path가 사라져서 5 kcal/mol 이내에서는 tg form에서 gg form으로 이동하는 경로가 존재하지 않았다.

두 상태의 변화를 시각적으로 명확히 보기 위해서 Fig. 2와 Fig. 4의 차이를 Fig. 8에 나타내었다. 이는 vacuum 안에서와 implicit water 안에서의 차이므로 solvation effect라

Figure 8. Contour map of solvation energy difference between β -D-glucopyranose molecules in implicit water and in vacuum: $\Delta E_{\text{solvation}} = E_{\text{solvation}} - E_{\text{solvation.min}}$.

Figure 9. Minimum of O4-O6 & O5-O6 distances

고 할 수 있다. $\Delta E_{\text{solvation}}$ 는 대부분의 영역에서 -4 kcal/mol 이하이나 $\omega=160\sim 260^\circ$ (그림에서는 $\omega=-120\sim -100^\circ$ 와 $160\sim 240^\circ$ 두 영역으로 보인다), $\tau_6=80\sim 80^\circ$ 영역에서 -4 kcal/mol 보다 높은 값을 가진다. Fig. 9은 ω , τ_6 값에 따라 수소결합이 가능한 OH group의 산소 원자간 거리를 나타낸 것이다. 짧은 거리가 나타나는 영역을 강한 수소결합이 가능한 영역이라고 간주할 때, 이 영역($\omega=0^\circ$, $\tau_6=0^\circ$ 와 $\omega=200^\circ$, $\tau_6=0^\circ$ 근처)에서 solvation effect가 감소함($\Delta E_{\text{solvation}}$ 가 큰 값을 가짐)을 알 수 있다. O-O 사이의 거리만 봤을 때 ω 값이 $-40\sim 40^\circ$ 영역에서도 수소결합이 가능해 보이지만 실제 구조를 그려보면 OH orientation 때문에 수소결합이 가능하지 않다.

Fig. 8과 Fig. 9을 종합적으로 분석하여 보면 진공 안에서와 solvation 상태에서 global minimum의 위치와 tg/gg conformation 사이 path의 변화가 나타나는 이유는 (진공 안에서) 수소결합으로 인한 구조의 안정성과 solvation energy가 서로 상쇄하는 결과를 만들었기 때문인 것으로 사료된다. 진공 내에서의 환경이 implicit water 안으로 바뀔 때 따라 local minimum들 간의 에너지 장벽이 5 kcal/mol 에서 4 kcal/mol 로 감소하였다. 이는 local minimum들 사이의 구조 변화가 더 용이하게 될 것으로 추측하게 한다.

결 론

AMBER molecular dynamics package를 사용하여 vacuum 안에서와 implicit water 안에서의 ω , τ_6 dihedral angle에 따른 Potential energy contour map을 작성하였다. 두 contour map 모두 ω , τ_6 angle이 -60° , 60° , 180° 이 되는 곳 부근에서

local minimum들이 나타났으나 다음과 같은 상이한 결과도 관찰되었다: Global minimum 위치의 변화; tg/gg conformation 사이 path의 변화. 이는 진공 내에서의 수소결합에 의한 안정화 효과와 solvation energy 효과(solvation effect)가 서로 상쇄하는 결과를 초래했기 때문으로 사료된다. 각각의 ω , τ_6 angle에 대한 81개의 local minimum들을 기반으로 minimization 과정을 통해 작성한 potential energy contour map과, 81개가 아닌 하나의 local minimum(예. τ_1 , τ_2 , τ_3 , τ_4 dihedral angle을 180° 로 설정한 초기 구조)만을 가지고 작성한 contour map을 비교했을 때 주목할만한 변화는 일어나지 않았다. 이를 통해서 ω , τ_6 dihedral angle을 제외한 나머지 torsion angle은 minimum energy에 큰 영향을 주지 않는 것을 알 수 있었다. 추후 연구에서는 potential energy 계산에서 나아가 엔트로피 계산 및 자유 에너지 계산을 수행할 예정이다. 이를 통해서 각 구조들의 population을 구하고 실제 NMR 분석 결과와 비교할 것이다.

Acknowledgments. 이 논문(또는 저서)은 2012년 정부(교육과학기술부)의 재원으로 (재)차세대 바이오매스 연구단(글로벌프론티어연구사업)의 지원을 받아 수행된 연구임 ((재)차세대바이오매스연구단-2010-0029734).

REFERENCES

- Osullivan, A. C. *Cellulose* **1997**, 4, 173.
- Binder, J. B.; Raines, R. T. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2010**, 107, 4516.
- Himmel, M. E.; Ding, S. Y.; Johnson, D. K.; Adney, W. S.; Nimlos, M. R.; Brady, J. W.; Foust, T. D. *Science* **2007**, 315, 804.
- Bergenstrahle, M.; Thormann, E.; Nordgren, N.; Berglund, L. A. *Langmuir* **2009**, 25, 4635.
- Bergenstrahle, M.; Wohler, J.; Himmel, M. E.; Brady, J. W. *Carbohydrate Research* **2010**, 345, 2060.
- Bergenstrahle, M.; Thormann, E.; Nordgren, N.; Berglund, L. A. *Langmuir* **2009**, 25, 4635.
- Gross, A. S.; Chu, J. W. *Journal of Physical Chemistry B* **2010**, 114, 13333.
- Jebber, K. A.; Zhang, K.; Cassady, C. J.; ChungPhillips, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 10515.
- Wladkowski, B. D.; Chenoweth, S. A.; Jones, K. E.; Brown, J. W. *J. Phys. Chem. A* **1998**, 102, 5086.
- Cramer, C. J.; Truhlar, D. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 5745.
- Case, D. A.; Darden, T. A.; Cheatham III, T. E.; Simmerling, C. L.; Wang, J.; Duke, R. E.; Luo, R.; Walker, R.C.; Zhang, W.; Merz, K. M.; Roberts, B.; Wang, B.; Hayik, S.; Roitberg, A.; Seabra, G.; Kolossvy, I.; Wong, K. F.; Paesani, F.; Vanicek, J.; Liu, J.; Wu, X.; Brozell, S.

- R.; Steinbrecher, T.; Gohlke, H.; Cai, Q.; Ye, X.; Wang, J.; Hsieh, M.-J.; Cui, G.; Roe, D. R.; Mathews, D. H.; Seetin, M. G.; Sagui, C.; Babin, V.; Luchko, T.; Gusarov, S.; Kovalenko, A.; Kollman, P. A. 2010, AMBER 11, University of California, San Francisco.
12. Kirschner, K. N.; Yongye, A. B.; Tschampel, S. M.; Gonzalez-Outeirino, J.; Daniels, C. R.; Foley, B. L.; Woods, R. J. *Journal of Computational Chemistry* **2008**, 29, 622.
13. Hawkins, G. D.; Cramer, C. J.; Truhlar, D. G. *J. Phys. Chem.* **1996**, 100, 19824.
14. Hawkins, G. D.; Cramer, C. J.; Truhlar, D. G. *Chem Phys. Lett.* **1995**, 246, 122.
15. Tsui, V.; Case, D. A. *Biopolymers* **2001**, 56, 275.
16. Golden Software. Golden, Colorado. <http://www.golden-software.com/>.
-