



Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Facultad de Ciencias Físico Matemáticas

Microhidratación del flavonoide DHQ por métodos de
mecánica molecular

Tesis presentada al

Colegio de Física

como requisito parcial para la obtención del grado de

Licenciado en Física Aplicada

por

Carmina Chaltel Lima

asesorada por

Dr. Eduardo Gonzalez Jimenez y Dra. Alexandra Deriabina

Puebla Pue.
11 de agosto de 2015



Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Facultad de Ciencias Físico Matemáticas

Microhidratación del flavonoide DHQ por métodos de
mecánica molecular

Tesis presentada al

Colegio de Física

como requisito parcial para la obtención del grado de

Licenciado en Física Aplicada

por

Carmina Chaltel Lima

asesorada por

Dr. Eduardo Gonzalez Jimenez y Dra. Alexandra Deriabina

Puebla Pue.
11 de agosto de 2015

Título: Microhidratación del flavonoide DHQ por métodos de mecánica molecular

Alumno: CARMINA CHALTEL LIMA

COMITÉ

Dr. Valeri Poltev
Presidente

Dr. Roberto Ramírez Sánchez
Secretario

Dr. Wuiyebaldo Fermín Guerrero Sánchez
Vocal

M.C Juan Pablo Martínez Garcilazo
Vocal

Dr. Eduardo Gonzalez Jimenez y Dra. Alexandra Deriabina
Asesor

Índice general

Lista de abreviaturas	IX
Agradecimientos	XI
Resumen	XIII
Introducción	XV
1. MÉTODOS PARA EL ESTUDIO DE LA ESTRUCTURA MOLECULAR	1
1.1. Mecánica Molecular	3
1.2. Expresión explícita del campo de fuerzas	4
1.2.1. Energía enlazante	4
1.2.2. Energía no-enlazante	4
1.3. Potencial de Poltev	5
1.4. Optimización Geométrica	8
1.5. Métodos derivativos de orden uno (Gradiente Conjugado)	9
2. Moléculas biológicas con propiedades antioxidantes	11
2.1. Los antioxidantes	11
2.2. Los flavonoides y su estructura	13
2.3. Clasificación de los flavonoides	14
2.4. La Dihidroquercetina	16
2.4.1. Isómeros de la DHQ	17
3. MICROHIDRATACIÓN DE LA MOLÉCULA ANTIOXIDANTE DIHIDRO- QUERCETINA	19
3.1. Estructura y cargas	19
3.2. Generalidades del cálculo	20
3.3. Microhidratación de los isómeros DHQ: 2R3R y 2S3S	21
3.4. Microhidratación de los isómeros DHQ: 2R3S y 2S3R	24
3.5. Microhidratación del complejo experimental de dos isómeros DHQ	26
Apéndice A	29
Apéndice B	33
3.6. Proceso de minimización y programas	33
Conclusiones	35

Índice de figuras

1.1. Cargas parciales de los átomos de las bases de los ácidos nucleicos.	6
2.1. Estructura y notación de los flavonoides	13
2.2. Algunos de los principales grupos de los flavonoides	16
3.1. Estructuras más estables de la molécula DHQ	19
3.2. Cargas eléctricas expresadas en las cargas del electrón de los átomos del isómero DHQ	20
3.3. Representación de los mínimos de interacción de una molécula de agua con el isómero DHQ2R3R vistos desde dos diferentes ángulos (figuras a y b). Las letras corresponden con la Tabla 3.1 Las líneas punteadas representan los enlaces de hidrógeno . .	22
3.4. Representación de los mínimos de interacción de una molécula de agua con el isómero DHQ 2S3S. Las letras corresponden con la Tabla 3.1 . Las líneas punteadas representan los enlaces de hidrógeno	23
3.5. Representación de los mínimos de interacción de una molécula de agua con el isómero DHQ 2R3S. Las letras corresponden con la Tabla 3.3. Las líneas punteadas representan los enlaces de hidrógeno	25
3.6. Representación de los mínimos de interacción de una molécula de agua con el isómero DHQ 2S3R. Las letras corresponden con la Tabla 3.4. Las líneas punteadas representan los enlaces de hidrógeno	25
3.7. Estructuras de mínima energía más profundos para los 2 isómero 2R3S y 2S3R . .	26
3.8. Dos representaciones desde diferente ángulo de los mínimos de interacción de una molécula de agua con el dímero experimental DHQ, Las letras corresponden con la Tabla 3.5. Las líneas punteadas representan los enlaces de hidrógeno	27
3.9. Representación del dímero DHQ con moléculas de agua obtenido de los datos experimentales	28

Índice de tablas

1.1. Tipos de átomos para el potencial de Poltev Malenkov.	7
1.2. Coeficientes A_{ij} de las funciones de potencial de Poltev Malenkov.	7
3.1. Energías de interacción (kcal/mol) y distancias interatómicas (\AA) de los sitios de mínima energía de la interacción de una molécula de agua con el isómero DHQ-2R3R, calculados con los métodos de optimización de Stepest Descent (SD) y Gradiente conjugado (GC)	22
3.2. Energías de interacción (Kcal/mol) y distancias interatómicas (\AA) de los sitios de mínima energía de la interacción de una molécula de agua con el isómero DHQ 2S3S, calculados con los métodos de optimización de Stepest Descent y Gradiente conjugado	23
3.3. Energías de interacción (Kcal/mol) y distancias interatómicas (\AA) de los sitios de mínima energía de la interacción de una molécula de agua con el isómero DHQ2R3S.	24
3.4. Energías de interacción (Kcal/mol) y distancias interatómicas (\AA) de los sitios de mínima energía de la interacción de una molécula de agua con el isómero DHQ2R3S.	25
3.5. Energías de interacción (Kcal/Mol) y distancias interatómicas (\AA) de los sitios de mínima energía de la interacción de una molécula de agua con el dímero experimental de la DHQ	26
3.6. Coordenadas del isómero DHQ2R3R	29
3.7. Coordenadas del isómero DHQ2S3S	30
3.8. Coordenadas del isómero DHQ2R3S	31
3.9. Coordenadas del isómero DHQ2R3S	32

Lista de abreviaturas

ADN Ácido desoxirribonucleico.

ANS Anthocyanidin synthase

ATP Adenosín trifosfato.

CF Campo de fuerzas.

DHQ Dihidroquercetina.

E Energía.

E_A Energía adicional.

E_e Energía de las contribuciones electrostáticas.

E_H Energía asociada con los puentes de hidrógeno.

E_r Energía de acortamiento del enlace.

E_θ Energía de acortamiento del enlace

E_Ω Energía de torsión.

ERO Especie reactiva de oxígeno.

GC Gradiente Conjugado.

H Hidrógeno.

HB Enlaces de hidrógeno.

HF Hartree Fock.

IP Potencial de ionización.

K_{ij} Constante de fuerza de enlace.

LDL Lipoproteína de baja densidad.

MC Mecánica cuántica.

MM Mecánica molecular.

N Nitrógeno.

O Oxígeno.

OH Hidroxilo.

HB Enlaces de hidrógeno.

R_0 Distancia del enlace.

SD Steepest Descent.

VWV Van Der Walls.

Resumen

Los flavonoides son moléculas con propiedades antioxidantes, entre estas se tiene la dihidroquercetina (DHQ). En este trabajo se utilizan los métodos teóricos de simulación de Mecánica Molecular para investigar la microhidratación de la DHQ, esto es para encontrar y analizar las estructuras de mínima energía de los complejos de la molécula de agua-DHQ. Partimos de la estructura de los posibles isómeros de DHQ obtenida de cálculos ab initio y reportadas experimentalmente. Para obtener las estructuras de los mínimos locales se emplean los métodos de optimización estándar y el potencial empírico de Poltev-Malenkov. Los mínimos más favorables forman enlaces-H con diferentes átomos de la molécula.

Introducción

Dado que la mecánica molecular se ha convertido en una herramienta habitual para explicar y predecir numerosas propiedades moleculares de tipo estático y dinámico, la consideración detallada de sus posibles aplicaciones es sumamente amplia. La facilidad de optimización y reparametrización de las funciones de energía potencial de los campos de fuerzas ha dado lugar a un notable desarrollo de este método, y a una buena concordancia entre los valores experimentales y los calculados de un gran número de propiedades moleculares. Estos métodos son aplicados en este trabajo para las moléculas de la familia de los flavonoides.

Los flavonoides son ampliamente conocidos por su actividad antioxidante, sin embargo, aún no es completamente entendida la relación estructura-actividad antioxidante, pero se sabe que la capacidad antioxidante en los compuestos fenólicos como en los flavonoides se relaciona con el número y la posición mutua de los grupos hidroxilo así como de la conjugación y resonancia de la molécula. Una molécula de este tipo es la dihidroquercetina (DHQ). Las estructuras de los isómeros de DHQ fueron investigados en trabajos anteriores con cálculos de mecánica cuántica en el nivel de Hartree Fock y MP2 con el conjunto de bases 6-31G(d,p).

Por otro lado el estudio de la hidratación de una molécula nos permite explicar su comportamiento en el medio ambiente y cuantificar la influencia del agua sobre la estructura y las propiedades de ésta. Por tal motivo para determinar las regiones favorables para la interacción entre los radicales oxidativos y la molécula DHQ se realizaron cálculos de Mecánica Molecular con un potencial empírico para determinar las posiciones de mínima energía de las interacciones de la DHQ con moléculas de agua. Dentro del grupo de trabajo, este tipo de cálculos ya se han aplicado a la simulación de la hidratación de componentes de ácidos nucleicos, como son complejos de bases o nucleótidos.

El trabajo de tesis está organizado como sigue, en el primer capítulo se hace una revisión de los métodos de simulación de biomoléculas detallando el método de mecánica molecular, en el segundo capítulo se muestra la importancia de los antioxidantes y la estructura general de la dihidroquercetina. En último capítulo se presentan las estructuras de mínima energía de la DHQ con moléculas de agua remarcando las particularidades de los sitios de interacción.

Capítulo 1

MÉTODOS PARA EL ESTUDIO DE LA ESTRUCTURA MOLECULAR

La biofísica computacional es una disciplina que se extiende más allá de los límites tradicionales que separan la química, la física, la biología y la ciencia de la computación, permitiendo la investigación de átomos, moléculas y macromoléculas mediante una computadora o actualmente incluso con un sistema de computadoras (clúster) cuando la investigación de laboratorio sea inaccesible, impracticable o imposible. En principio, desde la formulación de la Mecánica Cuántica, se conoce la manera de obtener de forma exacta la información estructural que queramos de un sistema molecular; pero, aunque formalmente conozcamos la teoría, las matemáticas necesarias para desarrollarla aun no están disponibles, y es preciso recurrir a diversas aproximaciones.

Esto hace que sea muy costoso el cálculo mecánico-cuántico de los sistemas moleculares, por lo que se simplifica, y esas simplificaciones que se hacen dentro del formalismo de la Mecánica Cuántica adicionando datos empíricos son los llamados métodos semiempíricos o aun más, podemos aproximar también los modelos y pasar a utilizar solamente la Mecánica Clásica (Mecánica Molecular).

Nos encontramos así con dos grandes líneas en los cálculos de estructuras moleculares, los métodos que parten de una concepción cuántica y los que lo hacen desde los modelos clásicos:

1. La mecánica molecular, que aplica las leyes de la física clásica al núcleo molecular sin considerar explícitamente a los electrones.
2. Los métodos de cálculo de estructura electrónica, están basados principalmente en las leyes de la mecánica cuántica.

Los estados cuánticos, energía y otras propiedades relacionadas, se obtienen resolviendo la ecuación de Schrödinger (ec 1):

$$\hat{H}\psi = E\psi \tag{1.1}$$

Pero sólo para muy pocos sistemas esta ecuación puede ser resuelta exactamente. Los métodos de cálculo de estructura electrónica se caracterizan por las aproximaciones matemáticas para resolver la ecuación de Schrödinger y según el tratamiento realizado se subdividen, en métodos semiempíricos y métodos ab-initio.

Los métodos semi-empíricos, utilizan parámetros experimentales para simplificar el cálculo computacional. Estos métodos resuelven en forma aproximada la ecuación de Schrödinger que depende de parámetros apropiados al tipo de sistema químico bajo estudio.

Los métodos ab-initio, a diferencia de MM, no utilizan parámetros experimentales en el cálculo, están basados únicamente en las leyes de la mecánica cuántica y valores de las constantes físicas fundamentales (velocidad de la luz, masas, carga del electrón y núcleos, constante de Plank).

Los métodos semiempíricos tienen menor costo computacional, y proveen una descripción cualitativa razonable, pero la exactitud en la predicción cuantitativa de la energía y las estructuras moleculares depende de que tan buenos sean los conjuntos de parámetros, el tamaño del sistema y el tipo de átomos que lo conformen. Los métodos ab initio, a diferencia de los semiempíricos, predicen con mayor exactitud desde el punto de vista cuantitativo y cualitativo, pero el costo computacional aumenta sustancialmente.

La elección de uno u otro método depende de una serie de factores tales como el tamaño de una molécula, el tipo de información y el tiempo requeridos. En este contexto los cálculos de Mecánica Molecular, en general, respecto al tiempo de cómputo, son considerablemente menores que los mecano-cuánticos, se pueden aplicar a compuestos de mayor magnitud y complejidad reproduciendo valores experimentales referentes a geometrías y energías con aceptable precisión. La idea central de estos es que los enlaces poseen valores de longitudes y ángulos ideales o naturales, los cuales van a condicionar la geometría molecular.

La mecánica cuántica establece que las propiedades moleculares quedan descritas en su totalidad por la ecuación de Schrödinger para cada estructura molecular considerada. Sin embargo, la función de onda que describe una molécula tiene infinitos términos por lo que es necesario recurrir a aproximaciones para su resolución. La aproximación de Born-Oppenheimer desdobra la ecuación de Schrödinger en dos partes independientes: una que representa los movimientos de los electrones y otra que considera los movimientos de los núcleos, y se aplica en dos sentidos diferentes [1, 2].

Así para el estudio de la estructura electrónica frecuentemente se determinan las posiciones de los núcleos correspondientes a un mínimo energético y se mantienen fijas durante los cálculos de la distribución electrónica. El método de la Mecánica Molecular utiliza la opción contraria, se centra simplemente en el estudio de la disposición de los núcleos y asume que los electrones se distribuirán óptimamente alrededor de ellos. La energía de la molécula en el estado electrónico fundamental es una función de las posiciones nucleares y la superficie de Born-Oppenheimer es una superficie multidimensional que describe la energía de la molécula en términos de las posiciones de los núcleos, ésta se designa generalmente como superficie de energía potencial (apéndice A).

El trabajo que desarrollamos en esta tesis como ya se menciona hace uso del método de Mecánica Molecular o también llamado "del campo de fuerzas" por lo tanto a continuación describimos los fundamentos teóricos del método.

1.1. Mecánica Molecular

Los métodos de mecánica molecular utilizan un conjunto de ecuaciones (obtenidas empíricamente y variables que difieren según los autores) para reproducir la superficie de energía potencial del sistema molecular. A este conjunto de ecuaciones, cuya forma matemática se deriva de la mecánica clásica, se denomina campo de fuerzas (CF) y contiene un conjunto de parámetros ajustables, optimizados de forma que se obtenga la mejor concordancia posible con las propiedades moleculares experimentales y calculadas con métodos de Estructura Electrónica, tales como, geometrías, energías de conformación relativas, calores de formación, reactividades, etc.

La idea básica de la mecánica molecular reside en la consideración del campo de fuerzas como un modelo computacional para describir la superficie de energía potencial en función de todos los grados de libertad de una molécula. En sentido estricto cada molécula posee su propio campo de fuerzas, sin embargo la interpolación, y a veces, la extrapolación de los datos existentes es, generalmente, una metodología válida. Por esta razón se asume que el conjunto de ecuaciones y parámetros que se puede transferir de una molécula a otra, es decir, la parametrización se efectúa para un grupo de moléculas y los valores así establecidos se utilizan para calcular otros compuestos estructuralmente relacionados. La parametrización del campo de fuerzas es uno de los puntos fundamentales y requiere una elección cuidadosa de los datos experimentales, dado que el grado de fiabilidad del método está limitado por la precisión de los mismos.

Puesto que la mecánica molecular sólo considera el movimiento nuclear, prescindiendo de los electrones, una molécula se puede representar mediante un modelo mecánico, como un conjunto de partículas (los átomos) unidas (a través de enlaces) por fuerzas armónicas o elásticas. Estas fuerzas se pueden describir como funciones de energía potencial de los parámetros estructurales tales como longitudes de onda y ángulos de enlace, ángulos diedros, interacciones no enlazantes, etc.

La combinación de las funciones de energía potencial es el campo de fuerzas y la energía E de la molécula surge como resultado de las desviaciones de estos parámetros de los valores ideales. De acuerdo con esta suposición, la energía del sistema se puede desglosar en una suma de términos energéticos que representaran todas las interacciones posibles: deformaciones de los enlaces por elongación, plegamiento o rotación e interacciones entre las partículas [2].

$$E = E_r + E_\Theta + E_\omega + E_e + E_{VDW} + E_A \quad (1.2)$$

Cada uno de los términos de la ec. 1.2 tiene posiciones de equilibrio preferentes, asociadas con valores naturales o ideales de los parámetros estructurales y unas constantes de fuerza, conocidas experimentalmente o estimadas teóricamente, que permiten evaluar las contribuciones energéticas de cada tipo de desviaciones presentes en una estructura determinada.

Así, E_r , tiene en cuenta las deformaciones de las longitudes de enlace -alargamiento o acortamiento del enlace-, E_θ está asociada con las distorsiones de los ángulos de enlace, E_ω es la energía de torsión debida a la modificación de los ángulos diedros por rotación de los enlaces, E_e , E_{VDW} y E_A consideran las contribuciones de las repulsiones electrostáticas, las interacciones de Van Der Waals, y un término adicional respectivamente. Algunas veces en algunos campos se agrega otro término asociado a los puentes de hidrógeno E_H .

La suma de todas las componentes para todos los átomos que componen la molécula, conduce a la energía total de la molécula que a veces se denomina *energía estérica*. Este valor no tiene sentido físico por sí mismo, es solamente una medida de las tensiones intramoleculares con respecto a una situación hipotética. Sin embargo, las diferencias de energía para distintas geometrías de la misma molécula proporcionan la estabilidad relativa de las mismas y constituye una magnitud apropiada para la comparación con propiedades observables experimentales, tales como las poblaciones conformacionales o las barreras rotacionales.

1.2. Expresión explícita del campo de fuerzas

Para las biomoléculas, el campo de fuerzas descrito antes se considera por medio de dos tipos de energía de interacción.

$$E_T = E_{enlazante} + E_{no-enlazante} \quad (1.3)$$

Donde la $E_{enlazante}$ de la ec. 1.3, describe interacciones que involucran cambios en el enlace covalente y $E_{no-enlazante}$ describe interacciones entre átomos no enlazados covalentemente o enlazados, pero con interacción no menor al cuarto vecino.

1.2.1. Energía enlazante

Usualmente es descrita por medio de los términos: E_{enlace} que describe las interacciones entre dos átomos enlazados, E_{angulo} describe las interacciones entre 2 enlaces que comparten un átomo en común, $E_{torsion}$ describe las interacciones entre un enlace ij y un enlace kl conectados a través de un enlace jk.

Puesto que se espera que el enlace covalente permanezca cercano al equilibrio, la tensión del enlace y el ángulo de doblez son tomados como un armónico:

$$E_{enlace} = \frac{1}{2} K_{IJ} (R_{IJ} - R_0)^2 \quad (1.4)$$

$$E_{angulo} = \frac{1}{2} K_{IJ} (\theta - \theta_0)^2 \quad (1.5)$$

Donde R_0 es la distancia del enlace en el equilibrio, K_{ij} es la constante de fuerza del enlace, θ es el ángulo entre los enlaces ij y jk, θ_0 es el ángulo de enlace en equilibrio y K_{ijk} es la constante de fuerza angular.

La energía de torsión es descrita en términos del ángulo diedro, ϕ , entre los enlaces ij y kj a lo largo del enlace jk. Este es periódico y puede ser escrito como:

$$E_{torsion} = \frac{1}{2} \sum_{n=1}^6 K_{\phi,n} [1 - d \cos(n\phi)] \quad (1.6)$$

Donde $K_{\phi n}$ es la energía barrida de torsión para periodicidad n, y $d = \pm 1$ descrita para cualquier ángulo de torsión ($\phi = 0$) es un mínimo ($d = 1$) o un máximo. Finalmente se puede agregar un término que describa distorsiones de la planaridad producidas por la formación de tres enlaces o para grupos funcionales unidos a estructuras cerradas (anillos), el término adicional es E_A .

1.2.2. Energía no-enlazante

La energía no enlazante es dividida en un término electrostático E_e (Coulomb), y términos de Van der Waals (VDW), algunas veces se agrega un componente explícito para los enlaces de hidrógeno (HB). Cada átomo está asociado con una carga atómica q_i , siendo el término de la energía electrostática E_e de la forma:

$$E_e = \sum_{I,J} \frac{q_I q_J}{\epsilon R_{I,J}} \quad (1.7)$$

Donde q_i es la carga sobre el átomo i, R_{ij} es la distancia entre los átomos i y j, ϵ hace referencia a la constante dieléctrica del medio.

Esto plantea la cuestión de cómo determinar las cargas. Dependiendo del campo de fuerzas puede ser calculada con métodos semiempíricos ajustada con diferentes parámetros experimentales. Para sistemas biológicos, los enlaces de hidrógeno son particularmente importantes ya que en los muchos procesos biológicos las interacciones débiles juegan un papel fundamental.

Los términos de energía de Van der Waals para los enlace de hidrógeno, tiene en cuenta la aproximación del modelo de *esfera suave*, es decir, cualquier par de átomos que no sean de hidrógeno no debe estar más cerca de la suma de radios de van der Waals.

Como resultado de los cálculos, la energía mínima obtenida que tiene dos o más mínimos correspondientes a los resultados de los enlaces mínimos de N-HO ó N-HN (con N...N ó NO distancias alrededor de 3Å) correspondiente a la cercana linealidad o bifurcación de los enlaces de hidrógeno. Los resultados permitieron a Nash y Bradley racionalizar los datos experimentales disponibles sobre cristales de base de datos, así como la base-base de la formación de complejos en soluciones y polinucleótidos. Al parecer, las parejas de bases observadas con dos puentes de H en los cristales siempre corresponden con una de las geometrías calculadas de energía más bajo [3].

Las dos formas más comunes para la energía de Van der Walls (VDW) son: términos de Lennard-Jones Ec. 1.8

$$E_{L,J} = AR_{I,J}^{-12} - BR_{I,J}^{-6} \quad (1.8)$$

O con la ecuación exponencial de Buckingham Ec. 1.9

$$E_{exp6} = Ae^{-CR_{I,J}} - BR_{I,J}^{-6} \quad (1.9)$$

Donde A, B y C son parámetros que usualmente son definidos mediante una comparación con los datos experimentales y cálculos precisos de Mecánica Cuántica sobre pequeñas moléculas. En ambas, el primer término corresponde a la repulsión y el segundo a la atracción interatómica. La función de Morse también es utilizada algunas veces.

$$E_{I,J} = A\{e^{-C(R-R_i)} - 1\}^2 - 1 \quad (1.10)$$

Sin embargo debido a que algunos términos no enlazantes requieren cálculos para todos los pares de átomos (tomando como escala el cuadrado del número de átomos) esto es un cuello de botella para simulación de sistemas muy grandes.

1.3. Potencial de Poltev

Uno de los primeros campos de fuerzas elaborados para describir las interacciones entre componentes de ácidos nucleicos fue propuesto en la década de los setentas por Poltev y Zukhorukov, [4] fue ampliado a interacciones con otros átomos y refinado incluyendo interacciones con el solvente acuoso. La expresión de este potencial tiene la forma general de la ec.1.2.

Esta propuesta del CF para ácidos nucleicos se fundamentaba en las ideas: de De Voe y Tinoco (1962), [5] sobre las estimaciones cuantitativas de las interacciones de las subunidades de ácido nucleico, en la aproximación del monopolo de Bradley (1964),[6] para las interacciones electrostáticas de las bases, y el enfoque átomo-átomo de los cálculos de Van der Waals de las interacciones moleculares en cristales de Kitaygorodsky (1961),[7].

Las longitudes de enlace y el ángulo de valencia se fijaron y corresponde a un promedio de la geometría experimental para cada una de las bases (o para los residuos de aminoácidos y el esqueleto

péptido). Los términos de interacción átomo-átomo contenían la atracción electrostática y las contribuciones de las interacciones de corto alcance de London. Este esquema fue el primero para la asignación de los diferentes parámetros de los términos de Van der Waals de los átomos del mismo elemento químico, pero diferente configuración electrónica (por ejemplo, átomos de carbono, aromáticos y alifáticos, piridina y nitrógenos pirrólicos, oxígenos ceto y enol). Estos parámetros fueron evaluados preliminarmente con la aproximación de las fórmulas de London y agrandamiento de los radios de Van der Waals de los átomos.

Los valores finales de los parámetros fueron seleccionados después de los cálculos paso a paso en comparación con datos experimentales para los cristales que contienen algunos átomos de un solo tipo (a partir del grafito, continuando con hidrocarburos aromáticos, pirazina y benzoquinona y, finalmente, las bases de los ácidos nucleicos). Las cargas efectivas de los átomos se calcularon a través de un simple método semi-empírico de la química cuántica (de Hückel y Del-Re para π -electrones y σ -electrones, respectivamente) con los parámetros ajustados para reproducir los valores experimentales de los momentos dipolares de las moléculas relacionadas. El esquema primario (Poltev y Sukhorukov 1967, 1970),[8] contenía un término de la polarización, pero fue eliminado debido a su escaso valor para muchos casos y para evitar las dificultades relacionadas con la no-aditividad de átomo-átomo y las interacciones molécula-molécula. El conjunto de parámetros fue ampliado incluyendo parámetros para el esqueleto azúcar-fosfato (Zhurkin 1980),[9] y para las interacciones de ADN con agua [10].

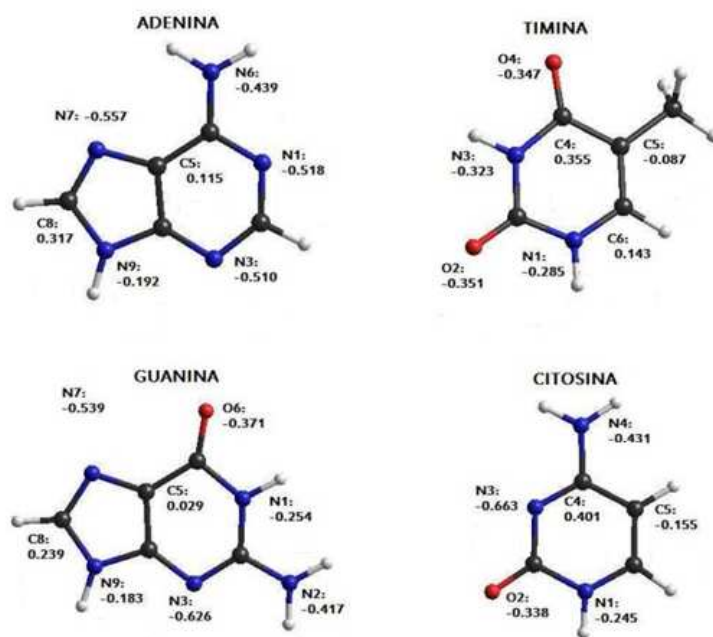


Figura 1.1: Cargas parciales de los átomos de las bases de los ácidos nucleicos.

Este esquema simple de MM, elaborado específicamente a las interacciones entre fragmentos de ácidos nucleicos, nos permite racionalizar un amplio conjunto de datos experimentales y predecir algunas propiedades de los ácidos nucleicos antes de la evidencia experimental. Los parámetros de este esquema simple se refinaron más tarde varias veces (al igual que cualquier esquema de fuerza de otro campo) a través de adaptación a los nuevos datos experimentales y a las consideraciones de la mecánica cuántica.

La expresión analítica para estos potenciales considera a la suma total de las cargas de las moléculas como nula, teniendo una forma simple pero produciendo resultados realistas. Los términos de energía valente tienen expresiones como en las ec. 1.4, 1.5 y 1.6. Y estos se implementan en un programa para el cálculo de la estructura de conformaciones de dúplex de ADN [11].

La energía total de las interacciones intermoleculares no-valentes, se calcula como la suma de interacciones átomo-átomo de van der Waals y electrostáticas:

$$U(r_{i,j}) = kq_iq_jr_{i,j}^{-1} - A_{i,j}^{10}r_{i,j}^{-10} + B_{i,j}^{10}r_{i,j}^{-12} \quad (1.11)$$

$$U(r_{i,j}) = kq_iq_jr_{i,j}^{-1} - A_{i,j}r_{i,j}^{-6} + B_{i,j}r_{i,j}^{-12} \quad (1.12)$$

Donde R_{ij} es la distancia interatómica, A_{ij} y B_{ij} son parámetros que dependen del tipo de interacción de los átomos (i,j). Las funciones 10-12 (ec.1.11) se utiliza para las interacciones entre los átomos que forman enlaces de hidrógeno, las 6-12 (ec.1.12) para los átomos restantes. Los efectos colectivos no aditivos están promediados en estos parámetros. A estas funciones de potencial se le llama, campo de fuerzas de Poltev y Malenkov [10]. La valoración de los resultados obtenidos con este potencial se hace comparando los valores calculados con los datos experimentales disponibles.

Tabla 1.1: Tipos de átomos para el potencial de Poltev Malenkov.

H1	Hidrógeno en grupo metil CH3
H2	Hidrógeno enlazado a carbono de anillo aromático
H3	Hidrógeno capaz de hacer enlace de hidrógeno con N3 u O1
C4	Carbono del grupo CH3
C5	Carbono en anillo aromático
N6	Nitrógeno en grupo amino NH2
N7	Nitrógeno en anillo aromático con tres enlaces sencillo
N8	Nitrógeno en anillo aromático con enlace doble
O9	Oxígeno con enlace doble
OW	Oxígeno del agua

Tabla 1.2: Coeficientes A_{ij} de las funciones de potencial de Poltev Malenkov.

Átomo	H1	H2	H3	C4	C5	N6	N7	N8	O9	O10	O11	P	Ow
H1	35	35	40	76	100	80	126	9073	9570	10667	4570	363	7193
H2	35	40	40	100	126	105	126	146	86	121	105	363	79
H3	40	40	40	100	126	105	126	146	86	121	105	363	80
C4	76	100	100	250	316	264	316	367	217	305	264	915	180
C5	100	126	126	316	400	477	400	464	274	385	334	1156	234
N6	80	105	105	264	477	280	334	391	233	455	284	979	270
N7	126	126	126	316	400	334	400	440	278	616	339	1170	285
N8	9073	146	146	367	464	391	440	550	330	465	403	1384	334
O9	9570	86	86	217	274	233	278	330	200	283	245	837	328
O10	10667	121	121	305	385	455	616	465	283	400	347	1182	296
O11	4570	105	105	265	334	284	339	403	245	347	300	1024	326
P	363	363	363	915	1156	979	1170	1384	837	1182	1024	3500	837
Ow	7193	79	80	180	234	270	285	334	328	296	326	837	366

Tabla 1.3: Coeficientes B_{ij} de las funciones de Potencial Poltev Malenkov

Átomo	H1	H2	H3	C4	C5	N6	N7	N8	O9	O10	O11	P	Ow
H1	5914	5914	7740	53939	25686	29229	24151	27008	26420	31084	12614	256000	18356
H2	5914	7740	7740	70600	61700	53700	53700	58700	12000	17800	12000	256000	12000
H3	7740	7740	7740	70600	81600	62000	714000	78300	313000	42200	36600	256000	35445
C4	53939	70600	70600	512000	601000	464000	538000	598000	256000	349000	302000	1873000	316687
C5	25686	617000	81600	601000	704000	947869	630000	699000	298000	406000	351000	2195000	472142
N6	29229	53700	62000	464000	947869	421000	488000	544000	23000	663737	274000	1722000	569984
N7	24151	53700	71400	538000	630000	488000	565000	537323	269000	815959	317000	1996000	550230
N8	27008	58700	78300	598000	699000	544000	537323	705000	303000	413000	358000	2253000	620345
O9	26420	12000	313000	256000	298000	233000	269000	303000	129000	176000	153000	989000	671000
O10	31084	17800	42200	349000	406000	663737	815959	413000	176000	240000	208000	1352000	398904
O11	12614	12000	36600	302000	351000	274000	317000	358000	153000	208000	180000	1172000	531400
P	256000	256000	256000	1873000	2195000	1722000	1996000	2253000	989000	1352000	1172000	7175000	989000
Ow	18356	12000	12000	316687	472142	569984	550230	620345	671000	398904	531400	989000	882847

Los tipos de átomos para la interacción se muestran en la Tabla 1.1 y los parámetros del potencial para los tipos de átomos se da en las Tablas 1.2 y 1.3.

Los criterios para elegir los valores de sus parámetros son los siguientes: Las cargas de los átomos se obtuvieron de valores de momentos dipolares de moléculas obtenidos de cálculos con métodos semi-empíricos de Mecánica Cuántica y fueron ajustados para reproducir momentos dipolares de series de moléculas relacionadas con los ácidos nucleicos [12, 13].

Después de evaluar la energía potencial con el campo de fuerzas de Mecánica Molecular para un sistema molecular, el siguiente paso es optimizar la estructura para encontrar las estructuras favorables, esto se describe en la siguiente sección.

1.4. Optimización Geométrica

La optimización geométrica intenta localizar un mínimo en la superficie de energía potencial, prediciendo así las estructuras de equilibrio del sistema molecular. Esto se logra con la modificación sistemática de las coordenadas atómicas de un modelo, dando como resultado una geometría donde las fuerzas netas en la estructura son iguales a cero.

Un mínimo de energía local es una disposición tridimensional de los átomos (se encontrará una geometría molecular estable sin necesidad de cruzar una barrera de energía conformacional).

La optimización geométrica es un proceso iterativo y comienza con una geometría de inicial que sigue el siguiente proceso:

1. Se realiza el cálculo de la energía potencial sobre la geometría inicial (punto único) utilizando un campo de fuerzas.
2. Las coordenadas para un subconjunto de átomos se cambian y se re-calcula un nuevo punto para determinar la energía de la nueva conformación.
3. La primera o segunda derivada de la energía (según el método) con respecto a las coordenadas atómicas determina cuanto y en qué dirección se debe cambiar el siguiente incremento de geometría.
4. Se realiza el cambio de la geometría en la dirección indicada.
5. A continuación se determina de nuevo la energía y sus derivadas y el proceso continúa hasta que se alcanza la convergencia que se fijó, terminando en ese momento el proceso de minimización y obteniéndose una estructura de mínima energía (mínimo local).

La capacidad de una optimización geométrica para converger a un mínimo depende de la geometría de partida, de la función de energía de potencial usada, y de las condiciones impuestas para conseguir un gradiente mínimo aceptable entre pasos (es el criterio de convergencia).

La mayoría de los algoritmos de optimización estiman o calculan el valor de la segunda derivada de la energía con respecto a las coordenadas moleculares actualizando la matriz de las constantes de fuerza (conocida como Hessiana). Estas constantes de fuerza especifican la curvatura de la superficie en ese punto que proporciona información adicional del mínimo. En un punto estacionario el gradiente es cero, para caracterizar mejor el punto estacionario, se encuentran los eigenvalores del Hessiano en ese punto. Si los eigenvalores son todos positivos, el punto es un mínimo y si los eigenvalores son negativos el punto es un máximo, en otro caso se trata de un punto de silla que corresponde a un estado de transición.

Existen diferentes tipos algoritmos de optimización, las primeras optimizaciones de Mecánica Molecular (MM) fueron hechas por Westheimer (1956),[14] y por Hendrickson (1961)[15]. Tanto en este caso en particular como en cualquier otro problema de optimización, para moverse por el espacio de búsqueda se pueden adoptar dos posturas diferentes: explorar (en zonas del espacio que previamente no tienen por qué haber sido visitadas) o explotar (la cercanía de soluciones ya existentes, sacándoles todo el partido posible). La mayor parte de los algoritmos de búsqueda se inclinan hacia una mayor aleatoriedad o explotación. Así, en general, los métodos de búsqueda se dividen, a grandes rasgos, en métodos globales y locales. Los métodos globales tratan de encontrar el mínimo global de un problema, mientras que los locales se concentran en la vecindad de la solución generada inicialmente, por lo que no tienen ninguna garantía de que el mínimo encontrado sea global.

Dentro de los métodos de búsqueda local, para variables continuas, son muy comunes los métodos de descenso, de manera que encuentran el mínimo más próximo al punto inicial. Estos métodos se distinguen de acuerdo al orden de la derivada.

1.5. Métodos derivativos de orden uno (Gradiente Conjugado)

Son los más empleados en la mecánica molecular. Además de los valores de la propia función, utilizan su primera derivada (gradiente). Estos métodos iteran la ecuación:

$$\chi_{i+1} = \chi_i + \iota_i s_i \tag{1.13}$$

Donde $\chi_{(i+1)}$ es la nueva posición en el paso $i + 1$, χ_i es la posición previa, χ_i es el tamaño del paso y s_i es la dirección de este paso. Los diferentes algoritmos varían en como definen esta dirección y este paso. La iteración se repite hasta que la variación en la función es menor a un determinado valor umbral. La longitud del paso se puede determinar con un algoritmo de búsqueda lineal o mediante la aproximación de un paso arbitrario.

La búsqueda lineal localiza el mínimo a lo largo de una dirección especificada (una línea es un espacio multidimensional). Para ello, frecuentemente, se ajustan de manera iterativa funciones polinomiales sobre un conjunto de puntos de la dirección de descenso y se resuelve el mínimo analíticamente. El gradiente en el punto mínimo de la línea de búsqueda es perpendicular a la dirección previa.

En la aproximación del paso arbitrario, el valor del paso tiene un valor definido que se incrementa se reduce durante el proceso según si el valor de la función se reduce o incrementa, respectivamente. Este procedimiento, aunque menos riguroso, suele requerir más pasos para alcanzar el mínimo, pero frecuentemente requiere menos evaluaciones de la función. Según el modo de escoger la dirección de descenso destacan:

Steepest Descent (SD) / Dirección del máximo gradiente: La dirección de descenso S_i corresponde al gradiente g_i negativo de la función en el punto

$$S_i = \frac{-g_i}{|g_i|} \quad (1.14)$$

En la optimización geométrica, corresponde a la dirección paralela a la fuerza, con lo que son las mayores fuerzas interatómicas las que determinan la dirección. Así, se trata de un buen método para eliminar rápidamente los peores impedimentos estéricos en una buena conformación inicial. Sin embargo, en las cercanías del mínimo necesita realizar muchos pasos, ya que al avanzar en direcciones ortogonales a la previa, oscila mucho, reintroduciendo errores ya corregidos en movimientos previos.

El método es generalmente robusto cuando el punto de inicio está muy lejos del mínimo donde la aproximación armónica de la superficie de energía es a menudo pobre. Como también, en superficies donde se hacen muchos pasos pequeños que se realizan cuando el procedimiento es a lo largo de una pendiente reducida. El método SD es forzado a hacer un giro a la derecha de cierto ángulo para cada punto, igual no ser la mejor ruta hacia el mínimo.

Gradiente Conjugado: Se necesita el gradiente actual y el gradiente del paso anterior para establecer la dirección de búsqueda. El conjunto de direcciones degenerado no es ortogonal y se evita el comportamiento oscilatorio en las cercanías del mínimo, convergiendo más rápido que SD.

$$S_i = -g_i + \gamma S_{i-1} \quad (1.15)$$

Capítulo 2

Moléculas biológicas con propiedades antioxidantes

2.1. Los antioxidantes

La oxidación es la transferencia de electrones de un átomo a otro, y representa una parte esencial de la vida aeróbica en nuestro metabolismo, ya que el oxígeno es el último aceptor de electrones en el sistema de flujo de electrones que produce energía en forma ATP. Sin embargo, pueden surgir problemas cuando el flujo de electrones se desacopla, resultando en la generación de radicales libres. Por lo tanto, para proteger el organismo de las especies reactivas es necesario neutralizarlas, es decir, anteponer una función antioxidante.

Cuando hablamos de actividad antioxidante es necesario hacer referencia a las especies reactiva de oxígeno y a los antioxidantes: una especie reactiva de oxígeno (ERO) es cualquier átomo o molécula con electrones desapareados y, por lo tanto, es una especie inestable. Entre éstos podemos mencionar a los radicales [ion superóxido O_2^-] radical hidroxilo (OH), alcoxilo (RO) producidos de forma endógena (metabolismo de la respiración, células fagocitarias, auto-oxidación de compuestos de carbono y la activación catalítica de algunas enzimas), y de forma exógena (radiación, luz solar, tabaco, ozono, drogas, contaminantes y aditivos en alimentos).

Por otra parte, un antioxidante es una sustancia que, en bajas cantidades, actúa previniendo o retardando la oxidación de materiales fácilmente oxidables tales como las grasas. Finalmente, la actividad antioxidante es la capacidad que tiene una sustancia para disminuir la presencia de las especies reactivas de oxígeno antes de su ataque a diversos sustratos (Lípidos, proteínas, ADN). Esto es de suma importancia debido a que las especies reactivas de oxígeno producen diversas acciones sobre el metabolismo que pueden ser el origen del daño celular, porque actúan:

- Atacan a los lípidos y proteínas de la membrana celular por lo que la célula no puede realizar sus funciones vitales (transporte de nutrientes, eliminación de desechos, división celular).

El radical superóxido, O_2^- , que se encuentra normalmente en el metabolismo provoca una reacción en cadena de la lipoperoxidación de los ácidos grasos de los fosfolípidos de la membrana celular.

- Atacan al ADN impidiendo que tenga lugar la replicación celular y contribuyendo al envejecimiento celular.

Para comprender la forma en que actúa un antioxidante frente a un radical libre es necesario conocer el mecanismo lipoperoxidación (peroxidación lipídica) por los que se pueden actuar [16].

Sobre todo para antioxidantes fenólicos (en donde el término Ar-OH se refiere a un compuesto que contiene al menos un grupo hidroxilo unido a un anillo aromático) dentro de estos son importantes los flavonoides.

En los compuestos fenólicos su actividad antioxidante es la propiedad química más ampliamente investigada. Los antioxidantes son capaces de neutralizar los radicales libres que están siempre presentes en los alimentos, así como en las células del cuerpo humano. Las propiedades antioxidantes de los compuestos fenólicos están relacionadas con su capacidad de transferencia de un hidrógeno o un electrón, así como con la quelación de iones metálicos y la inhibición de la actividad de las oxidasas. Un quelatante es un químico que forma moléculas complejas con ciertos iones metálicos; el quelatante atrapa al ion e impide que este participe en otras reacciones químicas.

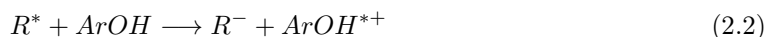
La actividad antioxidante de los compuestos fenolicos (como flavonoides) resulta de una combinación de sus propiedades quelatantes de hierro y secuestradoras de radicales libres, además de la inhibición de las oxidasas: lipooxigenasa, ciclooxigenasa, mieloperoxidasa y la xantina oxidasa; evitando así la formación de especies reactivas de oxígeno y de hidroxiperóxidos orgánicos. Aunado a esto, se ha visto que también inhiben enzimas involucradas indirectamente en los procesos oxidativos, como la fosfolipasa A2; al mismo tiempo que estimulan otras con reconocidas propiedades antioxidantes, como la catalasa y la superóxidodismutasa.

La capacidad antioxidante en los compuestos fenolicos como en los flavonoides se relaciona con el número y la mutua posición de los grupos hidroxilo y de la conjugación y resonancia de la molécula. Recientemente, una investigación química-cuántica ha demostrado que la quercetina por la conformación plana, permite una deslocalización electrónica ampliada. En la literatura se han reportando mecanismos principales por los cuales antioxidantes pueden desempeñar su rol.

La reacción muestra la transferencia de un átomo de hidrógeno en el flavonide (Arilo-OH) a un radical libre R^*



La eficiencia de la ArOH antioxidante depende de la estabilidad de los radicales ArO^* , que a su vez está determinado por el número de enlaces de hidrógeno, la conjugación, y los efectos de resonancia. La entalpía de disociación del enlace de los enlaces OH es un parámetro importante para evaluar la acción antioxidante, porque el más débil es el enlace OH más fácil la reacción de los libres inactivación radical será. En el mecanismo de transferencia de un electrón, el antioxidante puede dar un electrón a los radicales libres:



Una vez más, el catión radical derivados de la transferencia de electrones debe ser estable, por lo que no reaccionan con las moléculas del sustrato. En este caso, el potencial de ionización (IP) es el más importante factor de energía para la evaluación de la actividad de barrido.

Cabe mencionar que la actividad antioxidante puede ser evaluada tanto experimental como teóricamente. Cada uno de los métodos que se enfoca en la evaluación de esta propiedad ofrece diferente confiabilidad de resultados. Si bien, las determinaciones hechas mediante métodos experimentales muestran el grado de interacción entre el radical libre y el antioxidante mediante un valor, los métodos teóricos pueden proporcionar los factores estructurales que provocan ese grado de interacción. Dentro de las herramientas teóricas más importantes tenemos a los métodos basados en la física cuántica, ya que, los resultados obtenidos son sumamente confiables y permiten disminuir el costo y número de ensayos experimentales.

2.2. Los flavonoides y su estructura

Los flavonoides o bioflavonoides es el término genérico con que se identifica a una serie de metabolitos secundarios de las plantas, son pigmentos naturales presentes en frutas y vegetales que protegen al organismo de los daños producidos por sustancias o elementos oxidantes como los rayos ultravioleta, la contaminación ambiental y de sustancias nocivas presentes en los alimentos. Son sintetizados a partir de una molécula de fenilalanina y 3 de malonil-CoA, a través de lo que se conoce como "vía biosintética de los flavonoides", cuyo producto, la estructura base, se cicla gracias a una enzima isomerasa. Los flavonoides, como pigmentos heterocíclicos que contienen oxígeno, constituyen la mayoría de los colores amarillo, rojo y azul en las plantas y frutas. Particularmente se encuentran en abundancia en las uvas, manzanas, cebollas, cerezas, repollos; además de ser parte del árbol ginkgo biloba y la Camelliasinensis(té verde).

Fueron descubiertos en 1930 por el premio Nobel Szent-Györgyi, quien aisló de la cáscara del limón una sustancia, la citrina que probó regular la permeabilidad de los capilares al ser consumida. La palabra "flavo" proviene del latín flavus y significa de color entre amarillo y rojo, como el de la miel o el oro.

Los flavonoides se denominaron al principio vitamina P (por permeabilidad) y también vitamina C2, porque algunos tenían propiedades similares a la vitamina C.

El hecho de que los flavonoides fueran vitaminas no pudo ser confirmado, y ambas denominaciones se abandonaron alrededor de 1950.

Químicamente los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular que comparten un esqueleto común de difenilpiranos (C6-C3-C6), compuesto por dos anillos de fenilos (A y B) ligados a través de un anillo C de pirano (heterocíclico)(Figura 2.1).

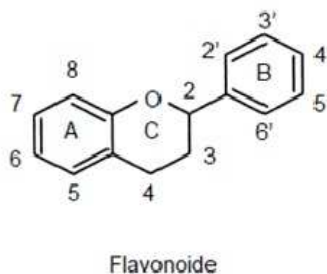


Figura 2.1: Estructura y notación de los flavonoides

Los átomos de carbono en los anillos C y A se numeran del 2 al 8, y los del anillo B desde el 2' al 6'. La actividad de los flavonoides como antioxidantes depende de las propiedades redox (reacción óxido-reducción, es la reacción química en la que uno o más electrones se transfieren entre los reactivos, provocando un cambio en sus estados de oxidación) de sus grupos hidroxifenólicos y de la relación estructural entre las diferentes partes de la estructura química. Esta estructura básica permite una multitud de patrones de sustitución y variaciones en el anillo C.

La estructura base, un esqueleto C6-C3-C6, puede sufrir posteriormente muchas modificaciones y adiciones de grupos funcionales, por lo que los flavonoides son una familia muy diversa de compuestos, aunque todos los productos finales se caracterizan por ser polifenólicos y solubles en agua. Los flavonoides que conservan su esqueleto pueden clasificarse, según las isomerizaciones y los grupos funcionales que les son adicionados, en 6 clases principales: las chalconas, las flavonas, los flavonoles, los flavandioles, las antocianinas, y los taninos condensados más una séptima clase, las auronas, tenidas en cuenta por algunos autores por estar presentes en una cantidad considerable de plantas. También el esqueleto puede sufrir modificaciones, convirtiéndose entonces en el esqueleto

de los isoflavonoides o el de los neoflavonoides, que por lo tanto también son derivados de los flavonoides.

Los criterios químicos para establecer la capacidad antioxidante de los flavonoides son:

-Presencia de estructura 0-dihidroxi en el anillo B; que confiere una mayor estabilidad a la forma radical y participa en la descolocación de los electrones.

-Doble ligadura, en conjunción con la función 4-oxo del anillo C.

-Grupos 3- y 5- OH con función 4-oxo en los anillos A y C necesarios para ejercer el máximo potencial antioxidante.

Siguiendo estos criterios, el flavonoide quercetina es el que mejor reúne los requisitos para ejercer una efectiva función antioxidante. Su capacidad antioxidante media como Trolox es de 4,7 mM, lo que resulta 5 veces mayor al demostrado por las vitaminas E y C y tiene una hidrosolubilidad similar a la vitamina E. La función antioxidante de la quercetina muestra efectos sinérgicos con la vitamina C. El ácido ascórbico reduce la oxidación de la quercetina, de manera tal que combinado con el ella permite al flavonoide mantener sus funciones antioxidantes durante más tiempo. Por otra parte, la quercetina protege de la oxidación a la vitamina E, con lo cual también presenta efectos sinergizantes. Así, se ha demostrado que el flavonoide inhibe la foto-oxidación de la vitamina E en la membrana celular de las células sanguíneas en presencia de la hematóporfirina como fotosensibilizador.

Los flavonoides retiran oxígeno reactivo especialmente en forma de aniones supeóxidos, radicales hidroxilos, peróxidos lipídicos o hidroperóxidos. De esta manera bloquean la acción deletérea de dichas sustancias sobre las células. Sus efectos citoprotectores son, por ejemplo, bien potentes en fibroplastos de la piel humana, queratinocitis, células endoteliales y ganglios sensoriales cultivados en presencia de sulfoxina. butionina, un inhibidor irreversible de la glutación sintetasa. Diversos flavonoides han mostrado su eficiencia para eliminar los procesos de peroxidación lipídica del ácido linoleico o de los fosfolípidos de las membranas, la peroxidación de los globulos rojos o la autooxidación de los homogeneizados del cerebro. Asimismo, se ha comprobado su potente capacidad de inhibir in vitro la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) por los macrófagos y reducir la citotoxicidad de las LDL oxidadas. De hecho, las poblaciones que consumen productos ricos en flavonoides estadísticamente presentan menores riesgos de afecciones cardiovasculares.

2.3. Clasificación de los flavonoides

El número de flavonoides diferentes que es en teoría posible es astronómico, si se tiene en cuenta que diez de los carbonos del esqueleto del flavonoide pueden ser sustituidos por una variedad de grupos diferentes, que a su vez pueden ser hidroxilados, metoxilados, metilados, isoprenilados o benzilados. Además, cada grupo hidroxilo y algunos de los carbonos pueden ser sustituidos por uno o más azúcares diferentes, y a su vez, cada uno de esos azúcares puede ser acilado con una variedad de ácidos fenólicos o alipáticos diferentes. Se han identificado y aislado alrededor de 9.000 flavonoides, pero sin duda aún hay muchos más por descubrir.

1. Las chalconas están implicadas en la estimulación de la polinización gracias a que inducen el desarrollo de colores en el espectro de lo visible y en el UV que atraen a insectos (mariposas y abejas)

2. Las flavonas son amarillas y pueden estar en algunas flores, como en la primula, dándoles un color amarillo a sus pétalos, o en frutos, como en la piel de las uvas, son las responsables del color amarillento de los vinos blancos. Hay tres flavonas importantes: la tricetina, presente en el polen de algunas mirtáceas, y también en las podocarpáceas (*Podocarpusspp.*); apigenina, presente en muchas plantas como la camomila, (*Matricaria recutita*) o el espino blanco (*Crataeguslaevigata*), da un color marrón marfileño a las flores si se presenta sola; y luteolina, de color amarillo, que

incluso sirve para teñir lana y otros tejidos, para lo cual se ha empleado la Retama de los tintoreros (*Genista tinctoria*).

3. Los flavonoles suelen ser incoloros o amarillos y se encuentran en las hojas y en muchas flores. Los más importantes son tres: quercetina, es el flavonol amarillo del polen de muchas fagáceas (*Quercus* sp.); miricetina, presente en la uva; y kaempferol, está presente en las inflorescencias y las protege de la luz ultravioleta. La fisetina es un flavonol que se extrae de la planta del género *Amphipterygium*.

4. Hay tres flavandioles característicos: leucocianidina, presente en algunas plantas, como en el plátano, o en el muérdago criollo (*Ligaria cuneifolia*); leucopelargonidina, presente como tal en cierta concentración en la alfalfa de secano (*Medicago truncatula*); y leucodelphinidina, que es activa en el castaño de indias (*Aesculus hippocastanum*).

5. Las antocianinas, son los pigmentos hidrosolubles presentes en el líquido vacuolar de las células responsables de la mayoría de las coloraciones rojas, azules y violetas de las flores y hojas.

6. Los taninos condensados son macromoléculas constituidas por unidades de flavonoides llamadas antocianidina. Los taninos están muy ampliamente distribuidos en las plantas como en el té, donde contribuyen al sabor astringente. 7. Las auronas son responsables de la coloración de algunas

plantas. A pesar de que se ha sugerido que estos compuestos están relacionados estrechamente con las chalconas, hay pocos indicios acerca de sus vías biosintéticas.

8. Las flavanonas son precursores de otros flavonoides más complejos, pero se encuentran como tales en altas concentraciones en los cítricos. Las más importantes son naringenina, presente en el zumo de naranja, limón o pomelo, dándole un sabor amargo; liquiritigenina, presente en el regaliz; y eriodictiol, se presenta en el guisante actuando como quimioatrayente para interactuar con agrobacterias.

9. Los dihidroflavonoles son los precursores directos de flavandioles y flavonoles, pero también tienen cierta actividad como tales en algunas plantas. Hay tres importantes: dihidromiricetina, presente en las partes aéreas de los brezos (*Erica* sp.), dihidroquercetina, en las uvas blancas o en la zarzaparrilla (*Smilax aristolochiaefolia*); y dihidrokaempferol.

Uno de los flavonoides de este último grupo es el que tratamos en este trabajo; la dihidroquercetina o también llamada taxifolina. Las características de esta molécula antioxidante se darán en la siguiente sección.

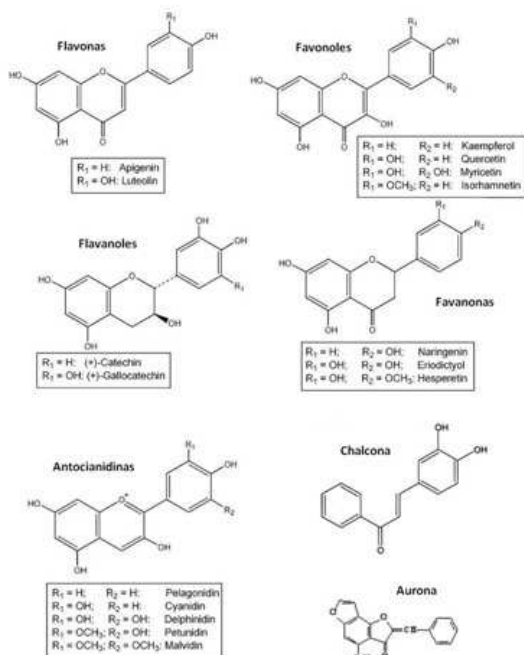


Figura 2.2: Algunos de los principales grupos de los flavonoides

2.4. La Dihidroquercetina

La dihidroquercetina, es un flavonoide que ha demostrado ser altamente beneficioso para la salud. Es uno de los antioxidantes más potentes entre los polifenoles, tiene propiedades antivirales, antibacteriales, anticancerígenas y antiinflamatorias. Las propiedades anticancerígenas son resultado de un significativo aumento en la apoptosis de las células mutadas, la inhibición de la síntesis del ADN, la inhibición del crecimiento de células cancerosas, así como de la disminución y la modificación de las vías celulares de transducción de señales [17].

Después de la ingestión, los derivados de la quercetina y dihidroquercetina son hidrolizados en su mayoría en el tracto gastrointestinal y luego absorbidos y metabolizados. Por lo tanto, el contenido y la forma de todos los derivados de estas sustancias en los alimentos son importantes para su biodisponibilidad. Los avances en los equipos de prueba, altamente sensibles y de alta precisión hicieron que los científicos pudieran aislar e identificar estos compuestos que ocurren a veces en cantidades mínimas y se caracterizan por una estructura compleja.

Con respecto a su estructura, en la quercetina como en los flavonoides los sustituyentes dihidroxílicos en posiciones 3' y 4' en el anillo B muestran ser más activos como antioxidantes y es potenciado este efecto por la presencia de un doble enlace entre los carbonos 2 y 3, un grupo OH libre en la posición 3 y un grupo carbonilo en la posición 4.

Por otro lado la dihidroquercetina (DHQ), se obtiene rompiendo el doble enlace entre los carbonos 2 y 3 e incrementando dos hidrógenos en esas posiciones. La presencia de dihidroxi- funcionabilidad incrementa la estabilidad radical a través de la formación de enlaces H y favorece la abstracción de átomos de hidrógeno. La DHQ es una molécula más activa en la donación de hidrógenos como se demostró por sus valores bajos en la entalpia de disociación de enlaces [Russo 18].

La estructura de la DHQ contiene varios centros activos (grupos hidroxilos y carbonil) como se muestra en la Figura 1. En los flavonoides hay tres factores estructurales determinantes que pueden ser responsables de la eliminación efectiva de los radicales libres: (1) el grupo orto-dihidroxi o catecol en el anillo B; (2) la conjugación del anillo B al grupo 4-oxo a través del 2,3-doble enlace y (3) los Grupos 3 - y 5- OH con el grupo 4-oxo, que permite la deslocalización de electrones entre el grupo 4-oxo con ambos sustituyentes. La combinación de todas estas características estructurales permite una mayor deslocalización de electrones esto confiere, por lo tanto, una mayor estabilidad a los radicales. El estudio de la hidratación de una molécula nos permite estudiar su comportamiento en el medio ambiente y cuantificar la influencia del agua sobre la estructura y las propiedades de esta.

2.4.1. Isómeros de la DHQ

La isomería es una propiedad de ciertos compuestos químicos con igual fórmula química, es decir, iguales proporciones relativas de los átomos que conforman su molécula, presentan estructuras moleculares distintas y, por ello, diferentes propiedades. Dichos compuestos reciben la denominación de isómeros. Los isómeros son compuestos que tienen la misma fórmula molecular pero diferente fórmula estructural y, por tanto, diferentes propiedades. Por ejemplo, el alcohol etílico o etanol y el éter dimetílico son isómeros cuya fórmula molecular es la misma.

Se clasifican en isómeros estructurales y estereoisómeros. Los isómeros estructurales difieren en la forma de unión de sus átomos y se clasifican en isómeros de cadena, posición y función. En los estereoisómeros los átomos están conectados de igual manera en ambas moléculas. La diferencia radica en la distinta orientación espacial de los átomos o grupos de átomos. Los estereoisómeros se clasifican enantiómeros (son imágenes especulares) y diastereoisómeros (no son imágenes especulares). Entre los diastereoisómeros se encuentran los isómeros cis-trans (antes conocido como isómeros geométricos), los confórmeros o isómeros conformacionales y, en las moléculas con varios centros quirales, los isómeros que pertenecen a distintas parejas de enantiómeros.

La DHQ posee dos carbonos asimétricos (C2 y C3) por lo que tiene 4 formas de conformaciones espaciales posibles (2R,3R), (2S,3S),(2R,3S) y (2S,3R). De ellas, (2S,3S) y(2R,3R) son enantiomorfos (formas especulares), en cambio, (2R,3S) es un diastereoisómero de los dos anteriores. Las cuatro formas conformacionales se muestran en las Figura 3.1 del siguiente capítulo.

Capítulo 3

MICROHIDRATACIÓN DE LA MOLÉCULA ANTIOXIDANTE DIHIDROQUERCETINA

3.1. Estructura y cargas

Para realizar los cálculos de la energía de la microhidratación de la molécula DHQ y sus isómeros, lo primero que hacemos es preparar el archivo iniciales, los cuales incluyen la geometría de la estructura (coordenadas) y el sistema de cargas de la molécula.

La estructura inicial de la molécula DHQ se toma de los datos experimentales de Rayos X de un complejo cristalizado de una proteína Anthocyanidin synthase (ANS) y dos moléculas de dihidroquercetina [19]. Cabe señalar que en esta molecular está desprovista de los átomos de hidrógeno ya que aun no es posible obtenerlos del análisis de rayos X. Los hidrógenos se colocaron tal que para un isómero se obtuvieran las n posibles configuraciones, entonces se optimizo la estructura con cálculos ab initio con una base estándar, de estos cálculos se obtuvieron las estructuras más estables para cada uno de los isómeros de DHQ considerando la orientación de sus átomos de hidrógeno. Este trabajo se realizo por otros compañeros tesistas del grupo [20,21]. Las 4 estructuras obtenidas se muestran en la Figura 3.1. El isómero 2R3R es el más estudiado por ser el más energético y más representativo en la naturaleza. Por esta razón es el primero de los cuatro isómeros de DHQ que se estudió [22,23].

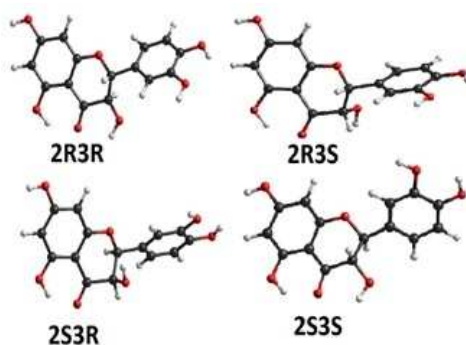


Figura 3.1: Estructuras más estables de la molécula DHQ

La notación de los isómeros corresponde a la nomenclatura de la estereoquímica. En la molécula DHQ los carbonos 2 y 3 son carbonos quirales (posee una imagen especular no superponible; enantiomeros) donde a un enantiomero se le nombra con R y a su imagen especular con S. Como ya dijimos DHQ tiene 2 carbonos quirales por lo tanto se presentan los cuatro enantiomeros 2R3R, 2R3S, 2S3S Y 2S3R. En el apéndice 1 se muestran las coordenadas del primer enantiomero [24].

Como se menciona en el Capítulo 1, dentro de los parámetros importantes de un campo de fuerzas se encuentra el sistema de cargas de la molécula. Para calcular las cargas de la molécula DHQ dentro del esquema del potencial de Poltev [13] empleamos un programa que calcula las cargas efectivas de los átomos a través de un simple método semi-empírico de la química cuántica (de Hückel y Re-Del para π -electrones y σ electrones, respectivamente)[26]. En la Figura 3.2 podemos observar el esquema de cargas eléctricas que son expresadas como partes de las cargas del electrón de los átomos del isómero DHQ.

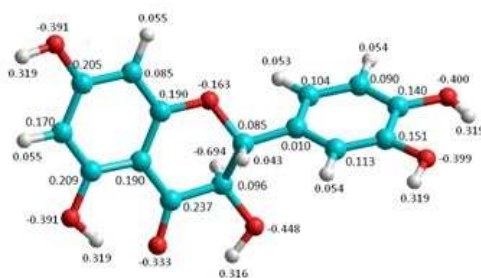


Figura 3.2: Cargas eléctricas expresadas en las cargas del electrón de los átomos del isómero DHQ

Para la molécula de agua, las coordenadas y cargas ya han sido utilizados en otros trabajos, el moldeo es de 3 de tres puntos y las cargas son de 0.64 para el oxígeno y 0.32 para cada hidrógeno, estos expresados en partes de la carga del electrón [25].

3.2. Generalidades del cálculo

El potencial de Mecánica Molecular describe las interacciones de los átomos, de tal manera que la interacción total entre dos moléculas es una suma de tales interacciones. Para la búsqueda de los mínimos de interacción de una molécula DHQ con una molécula de agua, se requiere la construcción de una posición inicial con indicio de posible formación de enlaces de hidrógeno y después de la aplicación de algún método de gradiente. En principio se puede realizar manualmente, es decir acercar las moléculas con programas de graficado molecular, pero este procedimiento requiere mucho tiempo y deja posibilidades de que no todas las posiciones sean exploradas.

Un método diferente se implementó en el Programa RASMOL6 en el trabajo de tesis de maestría [26], este método genera coordenadas aleatorias, para la interacción de dos moléculas rígidas, sean éstas X, Y, Z, φ_x , φ_y , φ_z siendo las primeras tres coordenadas las que definen la posición mutua de los centros geométricos de cada molécula y las segundas tres rotaciones alrededor de los tres ejes de coordenadas. Para la comodidad de cálculo una de las moléculas se fija en el centro de coordenadas, mientras que la posición de otra puede cambiar durante la minimización. Debido a que la posición de la primera molécula es fija, cada mínimo de interacción se caracteriza de la manera única por el conjunto de coordenadas de $(X, Y, Z, \varphi_x, \varphi_y, \varphi_z)_{\min}$.

La cantidad mínima de configuraciones generadas que permita encontrar todos los mínimos de sistema se define a partir del tamaño de las moléculas que la componen y su número.

El volumen que se considera para el muestreo en el espacio de X, Y, Z en primera instancia se define por una dimensión de las dos moléculas. Los valores de X, Y, Z se consideran dentro del intervalo $[(-d_{max1} - d_{max2})/2, (d_{max1} + d_{max2})/2]$, donde d_{max1} y d_{max2} son las máximas dimensiones de cada una de las moléculas. Considerando que las dimensiones de las bases de los ácidos nucleicos tienen en promedio 7Å como su d_{max} .

Para el proceso de minimización se usa el método de gradiente descendiente (steepest descent) con paso variable (capítulo 1). La configuración inicial $x^{(0)}$ es una de las configuraciones aleatorias generadas anteriormente, el paso inicial $\alpha^{(0)}$ se da como uno de los parámetros de entrada. Se calcula el valor de la energía de interacción $\Delta E(x^{(k)})$ en cada paso k y se estima el valor de $\Delta E(x^{(k)}) = E(x^{(k)}) - E(x^{(k-1)})$. El criterio de terminación del algoritmo es que $\Delta E(x^{(k)}) \leq \varepsilon$, donde ε es uno de los parámetros de entrada. Los valores de $\alpha^{(k)}$ se determinan según dos criterios:

1. $0 < \alpha^{(k)} < 1$
2. $E(x^{(k)} + \alpha^{(k)}) \leq E(x^{(k)})$

Al término de la minimización de todas las configuraciones generadas aleatoriamente se realiza una organización según los valores de energía de interacción obtenida para cada mínimo. Se determina también la frecuencia de aparición de cada mínimo, ésta puede servir de indicador de que tan accesible es éste. El sistema molecular comprende uno de los 4 isómeros de la molécula DHQ y una molécula de agua, se generan miles de configuraciones para localizar todos los mínimos posibles de energía para cada isómero los resultados se dan a continuación.

3.3. Microhidratación de los isómeros DHQ: 2R3R y 2S3S

En la Tabla 3.1 se reportan los valores de la energía y las distancias interatómicas de los mínimos de interacción con agua para el isómero 2R3R y en la Tabla 3.2 para el isómero 2S3S. En ellas registramos la energía de cada mínimo calculada con los dos diferentes métodos de optimización de Steepest Descent (SD) y Gradiente conjugado (GC). Lo primero que se observa en ambas tablas es que la energía es prácticamente la misma, hubo algunos mínimos que se movieron y cambio un poco la energía pero en la mayoría se mantuvo. Esto se comprueba en las distancias interatómicas en los átomos que forman los enlaces de hidrógeno estas son $O_W \dots H$, $O \dots H_W$ y $O_W \dots O$, el subíndice w indica que el átomo corresponde a la molécula de agua. Las desviaciones en las distancias son casi despreciables de para DHQ-2R3R y de para DHQ-2S3S.

E (SD); corresponde a la energía calculada con el método de Steepest Descent, E (GC); corresponde a la energía calculada con el método de Gradiente Conjugado. $O_W \dots H$ corresponde a la distancia interatómica del átomo de oxígeno del agua con el hidrogeno del grupo Hidroxilo del isómero. $O \dots H_W$ corresponde a la distancia interatómica del átomo de oxígeno del isómero con el hidrogeno de la molécula de agua. $O_W \dots O$ corresponde a la distancia interatómica del átomo de oxígeno de la molécula de agua con el oxígeno del isómero

En la Figura 3.3a y 3.3b se presenta los sitios de interacción de la molécula DHQ-2R3R con una molécula de agua, en esta figura se muestran todos los mínimos encontrados que corresponden con la Tabla 3.1, las dos figuras corresponden a la misma molécula vista desde dos ángulos diferentes.

Los mínimos más profundos A y B tienen características similares en ellas la molécula de agua forma un enlace a través de su oxígeno el cual se encuentra en el plano del anillo cercano, esto es que los oxígenos del grupo OH de la molécula DHQ es un donador. Como se observa en las Figuras en estas posiciones es en donde el agua tiene menor estorbo con los demás grupos OH.

Por otro lado a diferencia como hemos observado con las bases de los ácidos nucleicos en los cuales los mínimos más profundos se forma cuando la molécula de agua hace un puente con 2 enlaces de hidrogeno en el caso de DHQ también se forman 2 puentes de este tipo pero no son los más

**CAPÍTULO 3. MICROHIDRATACIÓN DE LA MOLÉCULA ANTIOXIDANTE
DIHIDROQUERCETINA**

3.3. MICROHIDRATACIÓN DE LOS ISÓMEROS DHQ: 2R3R Y 2S3S

Tabla 3.1: Energías de interacción (kcal/mol) y distancias interatómicas (Å) de los sitios de mínima energía de la interacción de una molécula de agua con el isómero DHQ-2R3R, calculados con los métodos de optimización de Stepest Descent (SD) y Gradiente conjugado (GC)

MÍNIMO	E(SD)	Ow...H, O...Hw	Ow...O	E(GC)	Ow...H, O...Hw	Ow...O
A	-8.57	1.79	2.76	-8.57	1.79	2.76
B	-8.31	1.79	2.76	-8.3	1.79	2.76
C	-6	1.86	2.84	-6.00	1.86	2.84
D	-7.03	1.91	2.84	-7.03	1.91	2.84
		1.92	2.67		1.92	2.67
E	-6.02	1.86	2.83	-6.02	1.86	2.83
F	-5.61	1.86	2.84	-5.6	1.86	2.84
G	-5.15	1.88	2.85	-5.15	1.88	2.85
H	-5.07	1.92	2.81	-5.07	1.92	2.81
		2.33	3.04		2.33	3.04
I	-4.95	1.89	2.87	-4.95	1.90	2.88
J	-4.93	1.88	2.85	-4.93	1.88	2.85
K	-4.65	1.88	2.85	-4.65	1.88	2.85
L	-4.55	1.91	2.86	-4.55	1.91	2.87

energéticos (mínimos D y H) estos puentes se forman adyacentes al oxígeno carbonil. En uno de los puentes el cual es el más energético sus átomos actúan como donador-aceptor mientras que el otro menos energético es donador-donador, en el primero como se esperaría la molécula de agua está en el plano no así el segundo que se sitúa encima del plano.

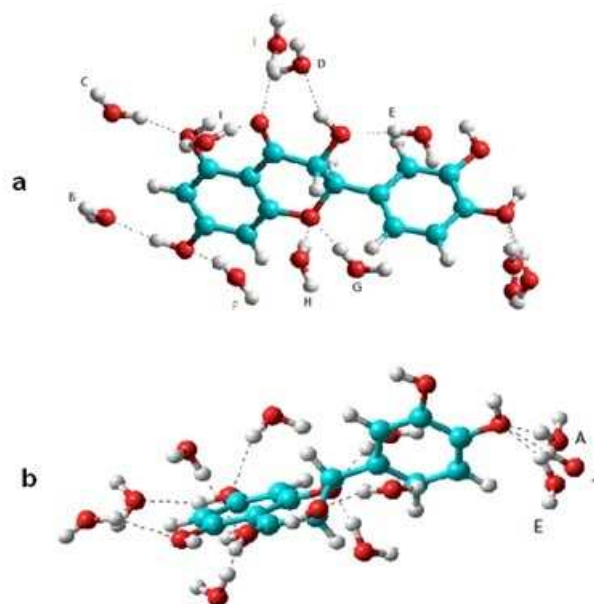


Figura 3.3: Representación de los mínimos de interacción de una molécula de agua con el isómero DHQ2R3R vistos desde dos diferentes ángulos (figuras a y b). Las letras corresponden con la Tabla 3.1 Las líneas punteadas representan los enlaces de hidrógeno

**CAPÍTULO 3. MICROHIDRATACIÓN DE LA MOLÉCULA ANTIOXIDANTE
DIHIDROQUERCETINA**

3.3. MICROHIDRATACIÓN DE LOS ISÓMEROS DHQ: 2R3R Y 2S3S

Tabla 3.2: Energías de interacción (Kcal/mol) y distancias interatómicas (Å) de los sitios de mínima energía de la interacción de una molécula de agua con el isómero DHQ 2S3S, calculados con los métodos de optimización de Stepest Descent y Gradiente conjugado

MÍNIMO	E(SD)	O _w ...H, O...H _w	O _w ...O
A	-7.61	1.89	2.82
B	-6.84	1.81	2.75
C	-6.81	1.87	2.85
D	-6.06	1.86	2.83
E	-6.01	1.87	2.84
F	-5.86	1.87	2.85
G	-5.84	1.86	2.85
H	-5.82	1.87	2.85
I	-5.84	1.86	2.84
J	-5.13	1.91	2.82
K	-5.02	1.88	2.82
L	-4.01	1.96	2.94

La descripción de la tabla es la misma que se utilizó en la Tabla 3.1

La Figura 3.4 se muestra la estructura microhidratada del isómero 2S3S, esta corresponde con la Tabla 3.2. Para el isómero 2S3S los mínimos no son tan energéticos como en 2R3R aunque el más profundo forma casi dos enlaces con el oxígeno carbonil y con el OH en posición 3 (mínimo A).

Sin embargo al aplicar el método del gradiente conjugado hubo mínimos que cambiaron y encontraron posiciones más favorables como el mínimo B o el mínimo L.

En un trabajo presentado al Congreso nacional de Física se realizaron cálculos de los mínimos de hidratación con el método de Monte Carlo, estos mínimos no son muy diferentes para este isómero [23].

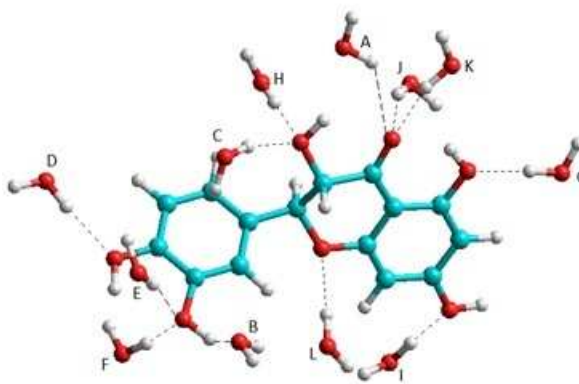


Figura 3.4: Representación de los mínimos de interacción de una molécula de agua con el isómero DHQ 2S3S. Las letras corresponden con la Tabla 3.1 . Las líneas punteadas representan los enlaces de hidrógeno

Para el isómero 2R3R, se realizaron cálculos de minimización de la energía por los métodos de Mecánica Cuántica de Hartree Fock y en la aproximación MP2/6-31G(d,p) [22], el mínimo más

profundo corresponde a la estructura en la que se forman 2 enlaces de hidrógeno los cuales unen el anillo B con el anillo C dando así una mejor estabilidad a la configuración, este mismo no fue encontrado por nosotros, creemos que debido a que consideramos las moléculas rígidas y en el cálculo ab initio esta estructura se puede mover.

El valor de este mínimo es de -10.19 kcal/mol, la configuración que le sigue en energía tiene el valor de -8.67 kcal/mol, este mínimo corresponde con el mínimo B encontrado por nosotros con una energía de 8.31 kcal/mol.

3.4. Microhidratación de los isómeros DHQ: 2R3S y 2S3R

La característica de estos isómeros es que los hidrógenos en las posiciones 2 y 3 se orientan ambos hacia arriba o hacia debajo de la molécula DHQ. Primeramente estos isómeros no son favorables por lo tanto no son comunes. Sin embargo hacemos el estudio de la hidratación para tener una comparación con los isómeros más favorables.

En la siguiente Tabla 3.3 presentamos los mínimos de energía encontrados por el método Stepest Descent por medio de programas computacionales como es Ranbase. En ella registramos la energía de cada uno de dichos mínimos, así como las longitudes que existen en los enlaces de tipo OW...H, O...HW y OW...O.

Tabla 3.3: Energías de interacción (Kcal/mol) y distancias interatómicas (Å) de los sitios de mínima energía de la interacción de una molécula de agua con el isómero DHQ2R3S.

MÍNIMO	E(SD)	Ow...H, O...Hw	Ow...O
A	-10.48	1.91 1.84	2.79 2.75
B	-8.31	1.80	2.75
C	-7.24	1.86	2.84
D	-6.42	1.86	2.84
E	-5.85	1.86	2.85
F	-5.71	1.86	2.84
G	-5.66	1.87	2.84
H	-5.43	1.89	2.87
I	-3.98	2.03	2.86

La descripción de la tabla es la misma que se utilizó en la Tabla 3.1.

En ambas estructuras la molécula de agua en el mínimo más profundo forma dos enlaces de hidrogeno con DHQ. En el isómero 2R3S se tiene el mínimos más profundo de los cuatro isómeros su energía es de 10.5 kcal/mol, este hace un puente entre el oxigeno carbonilo con el OH en 3, la molécula de agua está completamente fuera del plano del anillo AC (mínimo A). Después el mínimo con energía menor como en los isómeros 2R3R y 2S3S es con la molécula de agua en el plano en el OH (mínimo B, Figura 3.5), en el isómero 2S3R también se tiene ese mínimo con energía -8.31 kcal/mol y es el mínimo B de la Tabla 3.4 y Figura 3.4. El mínimo más profundo en 2S3R también se forma con 2 enlaces de hidrógeno, su energía es -8.75 kcal/mol (mínimo A) al igual que 2R3S, ambos mínimos son muy similares solo que sobresalen en extremos opuestos (Figura 3.5)

Una revisión de los resultados con el método de Monte Carlo también se tiene resultados similares. *La descripción de la tabla es la misma que se utilizó en la Tabla 3.1*

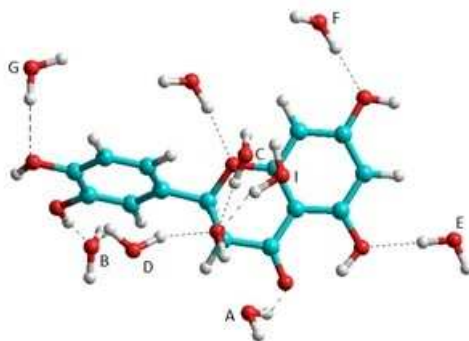


Figura 3.5: Representación de los mínimos de interacción de una molécula de agua con el isómero DHQ 2R3S. Las letras corresponden con la Tabla 3.3. Las líneas punteadas representan los enlaces de hidrógeno

Tabla 3.4: Energías de interacción (Kcal/mol) y distancias interatómicas (Å) de los sitios de mínima energía de la interacción de una molécula de agua con el isómero DHQ2R3S.

MÍNIMO	E(SD)	Ow...H, O...Hw	Ow...O
78 A	-8.75	1.91 1.92	2.82 2.78
29 B	-8.30	1.80	2.75
65	-7.28	1.83	2.75
79	-6.68	1.87	2.84
13	-6.49	1.89	2.83
31	-5.98	1.86	2.84
76	-5.90	1.86	2.84
22	-5.57	1.87	2.84
75	-5.56	1.91	2.80
85	-4.74	1.91	2.88

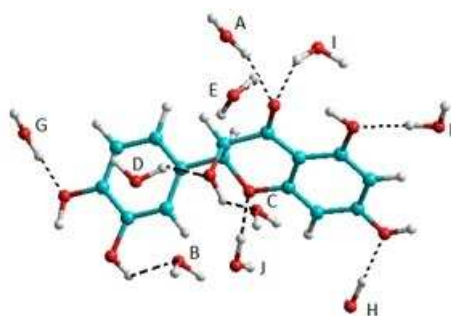


Figura 3.6: Representación de los mínimos de interacción de una molécula de agua con el isómero DHQ 2S3R. Las letras corresponden con la Tabla 3.4. Las líneas punteadas representan los enlaces de hidrógeno

**CAPÍTULO 3. MICROHIDRATACIÓN DE LA MOLÉCULA ANTIOXIDANTE
DIHIDROQUERCETINA**
3.5. MICROHIDRATACIÓN DEL COMPLEJO EXPERIMENTAL DE DOS ISÓMEROS DHQ



Figura 3.7: Estructuras de mínima energía más profundos para los 2 isómero 2R3S y 2S3R

3.5. Microhidratación del complejo experimental de dos isómeros DHQ

En este punto consideramos el complejo cristalizado de las dos moléculas DHQ de la cual tomamos las estructuras iniciales, este complejo también contiene moléculas de agua en torno al DHQ. Los dos isómeros tienen configuración 2R3R y 2S3S. Hacemos los cálculos de la minimización de la estructura con una molécula de agua, obteniendo los resultados de la Tabla 3.5. La descripción es como en las tablas anteriores. La Figura 3.8 corresponde con la Tabla 3.5

Tabla 3.5: Energías de interacción (Kcal/Mol) y distancias interatómicas (Å) de los sitios de mínima energía de la interacción de una molécula de agua con el dímero experimental de la DHQ

MÍNIMO	E(SD)	Ow...H, O...Hw	Ow...O
A	-10.44	1.80 1.90	2.80 2.72
B	-10.39	1.81 1.90	2.80 2.72
C	-9.22	1.77	2.77
D	-9.07	1.95	2.83
E	-8.40	1.86 1.95	2.72 2.93
F	-7.75	1.96	2.93
G	-7.65	1.88	2.79
H	-7.65	1.90	2.83
I	-7.59	1.95	2.74
J	-7.14	1.87	2.85
K	-6.47	2.23	3.15
L	-6.13	1.89	2.86
M	-6.06	1.86	2.84
N	-5.78	1.98	2.89
O	-5.60	1.86	2.84
P	-5.59	1.87	2.85
Q	-4.89	1.88	2.84
R	-4.87	1.90	2.86
S	-4.11	1.93	2.90

Como en los isómeros individuales los mínimos más profundos son aquellos donde se forman dos enlaces de hidrogeno. En el dímero tenemos más posibilidades de formar este tipo de puentes como el mínimo A con energía -10.45 kcal/mol que enlaza dos centros del mismo isómero como sucede

**CAPÍTULO 3. MICROHIDRATACIÓN DE LA MOLÉCULA ANTIOXIDANTE
DIHIDROQUERCETINA**
3.5. MICROHIDRATACIÓN DEL COMPLEJO EXPERIMENTAL DE DOS ISÓMEROS DHQ

en 2R3R o bien el puente formado entre los grupos OH de dos diferentes isómeros DHQ (mínimo E). Nuevamente el mínimo C aparece y es de los más profundos como en los isómeros individuales: igual en el isómero 2R3R (mínimo B) y parecido al mínimo B en 2S3S, 2R3S y 2S3R.

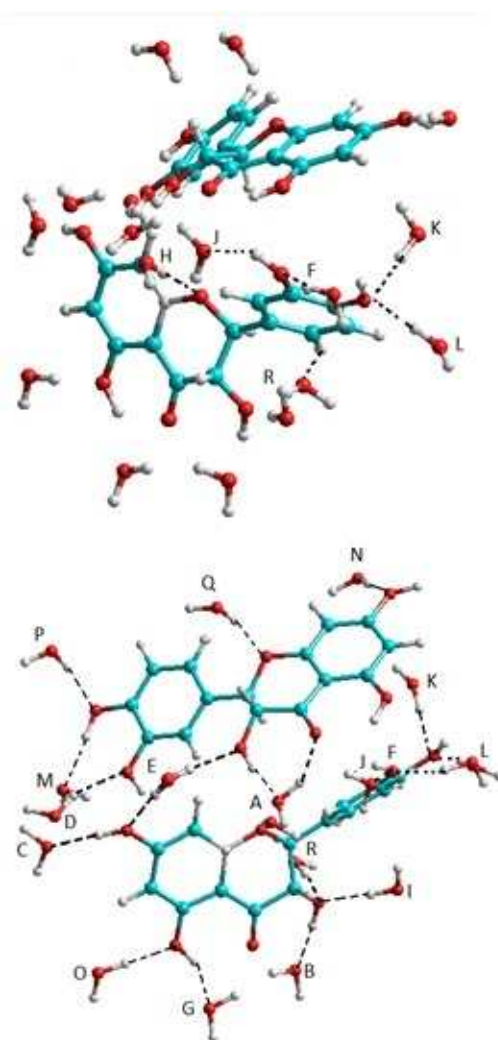


Figura 3.8: Dos representaciones desde diferente ángulo de los mínimos de interacción de una molécula de agua con el dímero experimental DHQ, Las letras corresponden con la Tabla 3.5. Las líneas punteadas representan los enlaces de hidrógeno

Como ya mencionamos el complejo experimental esta en solución acuosa y se tienen un conjunto molecular de agua (átomos de oxígeno) interaccionando con el dímero de DHQ, Esta estructura fue reproducida y optimizada con el mismo potencial utilizando el método de Monte Carlo el resultado se muestra en la Figura 3.7, solo mostramos los enlaces de la molécula de agua que puentea a los 2 isómeros DHQ. Todas las moléculas hacen enlaces con los centros hidrofílicos de los isómeros.

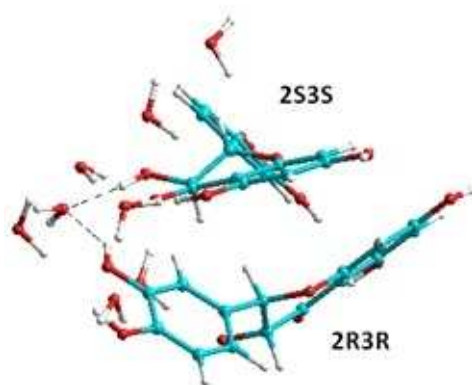


Figura 3.9: Representación del dímero DHQ con moléculas de agua obtenido de los datos experimentales

Apéndice A

Tabla 3.6: Coordenadas del isómero DHQ2R3R

COORDENADAS DEL ISÓMERO DHQ2R3R										
Átomo	X	Y	Z	Cargas	Enlace					
C5	-0.044	0.121	0.019	0.209	2	6	22	0	0	0
C10	0.031	-0.073	1.421	-0.114	1	3	10	0	0	0
C9	1.306	-0.076	2.045	0.19	2	4	7	0	0	0
C8	2.469	0.053	1.307	-0.172	3	5	25	0	0	0
C7	2.361	0.218	-0.087	0.205	4	6	21	0	0	0
C6	1.118	0.265	-0.73	-0.17	1	5	24	0	0	0
O1	1.421	-0.207	3.414	-0.163	3	8	0	29	0	0
C2	0.256	0.26	4.148	0.085	7	9	11	0	0	0
C3	-0.95	-0.572	3.694	0.096	8	10	19	0	0	0
C4	-1.162	-0.294	2.214	0.237	2	9	20	0	0	0
C1'	0.513	0.19	5.632	0.01	8	12	16	0	0	0
C2'	0.065	1.271	6.414	-0.113	11	13	29	28	0	0
C3'	0.176	1.236	7.79	0.151	12	14	18	0	0	0
C4'	0.752	0.117	8.431	0.14	13	15	17	0	0	0
C5'	1.21	-0.945	7.662	-0.09	14	16	28	0	0	0
C6'	1.087	-0.912	6.261	-0.104	11	15	27	0	0	0
O4'	0.856	0.083	9.798	-0.4	14	33	0	0	0	0
O3'	-0.242	2.253	8.635	-0.399	13	32	0	0	0	0
O3'	-2.107	-0.22	4.421	-0.448	9	34	0	0	0	0
O4'	-2.329	0.245	1.77	-0.333	10	0	0	0	0	0
O7	3.53	0.357	-0.781	-0.391	5	30	0	0	0	0
O5	-1.235	0.165	-0.624	-0.391	1	31	0	0	0	0
H3	-0.694	-1.633	3.818	0.062	9	0	0	0	0	0
H6	1.044	0.415	-1.799	0.055	6	0	0	0	0	0
H8	3.435	0.056	1.789	0.055	4	0	0	0	0	0
H2	0.078	1.303	3.867	0.043	8	0	0	0	0	0
H6'	1.446	-1.748	5.674	0.053	16	0	0	0	0	0
H5'	1.653	-1.796	8.163	0.054	15	0	0	0	0	0
H2'	-0.384	2.135	5.936	0.054	12	0	0	0	0	0
H71	3.323	0.482	-1.716	0.319	21	0	0	0	0	0
H51	-1.932	0.053	0.055	0.319	22	0	0	0	0	0
H31	0.675	2.937	8.111	0.319	18	0	0	0	0	0
H41	0.465	0.901	10.136	0.319	17	0	0	0	0	0
H31	-2.829	-0.255	3.773	0.316	19	0	0	0	0	0

Tabla 3.7: Coordenadas del isómero DHQ2S3S

COORDENADAS DEL ISÓMERO DHQ2S3S										
Átomo	X	Y	Z	Cargas	Enlace					
C1	-2.364	-0.755	0.514	-0.104	2	6	25	0	0	0
C2	-1.875	0.171	-0.405	0.01	1	3	7	0	0	0
C3	-2.767	0.851	-1.211	-0.113	2	4	26	0	0	0
C4	-4.131	0.62	-1.107	-0.151	3	5	27	0	0	0
C5	-4.614	-0.297	-0.2	0.14	4	6	21	0	0	0
C6	-3.717	-0.986	0.612	-0.09	1	5	22	0	0	0
C7	-0.395	0.455	-0.498	0.085	2	8	12	29	0	0
O1	0.305	-0.738	-0.174	-0.163	7	9	0	0	0	0
C8	1.643	-0.712	-0.131	0.19	8	10	16	0	0	0
C9	2.333	0.493	0.1	0.114	9	11	13	0	0	0
C10	1.588	1.107	0.342	0.237	10	12	17	0	0	0
C11	0.078	1.567	0.437	0.096	7	11	18	28	0	0
C12	3.774	0.461	0.133	0.209	10	14	20	0	0	0
C13	4.421	-0.733	-0.036	-0.17	13	15	23	0	0	0
C14	3.695	-1.898	-0.245	0.205	14	16	19	0	0	0
C15	2.304	-1.904	-0.302	-0.172	9	15	24	0	0	0
O2	2.088	2.801	0.491	-0.333	11	0	0	0	0	0
O3	-0.542	2.757	0.1	-0.448	12	30	0	0	0	0
O4	4.304	-3.074	-0.414	-0.391	15	32	0	0	0	0
O5	4.456	1.556	0.335	-0.391	13	31	0	0	0	0
O6	-5.939	-0.522	-0.11	-0.4	5	34	0	0	0	0
O7	-4.274	-1.879	1.476	-0.399	6	33	0	0	0	0
H1	5.495	-0.736	-0.002	0.055	14	0	0	0	0	0
H2	1.767	-2.812	-0.487	0.055	16	0	0	0	0	0
H3	-1.685	-1.306	1.139	0.054	1	0	0	0	0	0
H4	-2.408	1.574	-1.92	0.053	3	0	0	0	0	0
H5	-4.431	1.145	-1.73	0.054	4	0	0	0	0	0
H6	-0.148	1.273	1.464	0.062	12	0	0	0	0	0
H7	-0.145	0.739	-1.516	0.043	7	0	0	0	0	0
H8	0.055	3.467	0.291	0.316	18	0	0	0	0	0
H9	3.882	2.311	0.429	0.319	20	0	0	0	0	0
H10	5.243	-2.985	-0.374	0.319	19	0	0	0	0	0
H11	-3.615	-2.331	1.977	0.319	22	0	0	0	0	0
H12	-6.107	-1.776	0.551	0.319	21	0	0	0	0	0

Tabla 3.8: Coordenadas del isómero DHQ2R3S

COORDENADAS DEL ISÓMERO DHQ2R3S										
Átomo	X	Y	Z	Cargas	Enlace					
C5	3.739	-0.576	-0.223	0.209	2	6	0	0	0	0
C10	2.232	-0.539	-0.101	-0.114	1	3	7	0	0	0
C9	1.705	0.721	-0.018	0.19	2	4	10	0	0	0
C8	2.426	1.821	-0.044	-0.172	3	5	13	0	0	0
C7	3.81	1.811	-0.161	0.205	4	6	14	0	0	0
C6	4.473	0.594	-0.257	-0.17	1	5	15	0	0	0
C4	1.548	-1.749	0.035	0.237	2	8	33	23	0	0
C3	0.063	-1.555	0.311	0.096	7	9	12	26	0	0
C2	-0.416	-0.263	-0.338	0.085	8	10	34	0	0	0
O1	0.377	0.826	0.097	-0.163	3	9	11	0	0	0
C1'	-1.868	0.061	-0.084	0.01	9	12	0	0	0	0
C6'	-2.291	0.64	1.11	-0.104	11	13	0	28	0	0
C5'	-3.635	0.901	1.31	-0.09	12	14	0	0	0	0
C4'	-4.752	0.582	0.347	0.14	13	15	0	0	0	0
C3'	-4.15	-0.001	-0.842	0.151	14	16	20	0	0	0
C2'	-2.812	-0.253	-1.056	-0.113	11	15	30	0	0	0
O3'	-5.131	-0.282	-1.744	-0.399	15	32	29	0	0	0
O4'	-5.875	0.841	0.567	-0.4	14	33	21	0	0	0
O4'	2.009	-2.868	0.007	-0.333	7	0	22	0	0	0
O3'	-0.116	-1.483	1.694	-0.448	8	34	28	0	0	0
O7	4.177	2.967	-0.188	-0.391	5	30	0	0	0	0
O5	4.395	-1.722	0.299	-0.391	1	31	0	0	0	0
H3	-0.476	-2.391	-0.122	0.062	8	0	0	0	0	0
H6	5.542	0.54	-0.349	0.055	6	0	0	0	0	0
H8	1.935	2.841	0.015	0.055	4	0	0	0	0	0
H2	-0.264	-0.379	-1.41	0.043	9	0	0	0	0	0
H6'	-1.574	0.087	1.857	0.053	12	0	0	0	0	0
H5'	-3.974	1.354	2.223	0.054	13	0	0	0	0	0
H2'	-2.505	-0.694	-1.991	0.054	16	0	0	0	0	0
H71	5.406	2.825	-0.273	0.319	21	0	0	0	0	0
H51	3.785	-2.453	-0.232	0.319	22	0	0	0	0	0
H31	-4.777	-0.622	-2.548	0.319	17	0	0	0	0	0
H41	-6.384	0.57	-0.181	0.319	18	0	0	0	0	0
H41	0.096	-2.317	2.084	0.316	20	0	0	0	0	0

Tabla 3.9: Coordenadas del isómero DHQ2R3S

COORDENADAS DEL ISÓMERO DHQ2R3S										
Átomo	X	Y	Z	Cargas	Enlace					
O1	-0.286	0.702	-0.162	-0.163	2	6	0	0	0	0
C9	-1.631	0.678	-0.132	0.119	1	3	7	0	0	0
C10	-2.362	-0.539	-0.007	-0.114	2	4	10	0	0	0
C4	-1.592	-1.786	0.172	0.237	3	5	13	0	0	0
C3	-0.085	-1.631	0.349	0.096	4	6	14	0	0	0
C2	0.392	-0.479	-0.534	0.085	1	5	15	0	0	0
C8	-2.282	1.882	-0.24	-0.172	2	8	33	29	0	0
C7	-3.675	1.879	-0.229	0.205	7	9	12	0	0	0
C6	-4.406	0.706	-0.125	-0.17	8	10	34	0	0	0
C5	-3.736	-0.501	-0.018	0.209	3	9	11	0	0	0
O5	-4.458	-1.603	0.084	-0.391	10	12	0	0	0	0
O7	-4.275	3.068	-0.335	-0.391	8	13	0	28	0	0
O4	-2.117	-2.872	0.217	-0.333	4	14	0	0	0	0
O3	0.204	-1.423	1.699	-0.448	5	15	0	0	0	0
C1'	1.879	-0.23	-0.481	0.01	6	16	20	0	0	0
C6'	2.715	-0.906	-1.349	-0.104	15	15	30	0	0	0
C5'	4.09	-0.731	-1.293	-0.09	16	33	29	0	0	0
C4'	4.641	0.132	-0.371	0.14	17	32	21	0	0	0
C3'	3.8	0.822	0.499	0.151	18	34	22	0	0	0
C2'	2.437	0.643	0.447	-0.113	15	0	28	0	0	0
O4'	5.975	0.305	-0.324	-0.4	18	30	0	0	0	0
O3'	4.422	1.661	1.37	-0.399	19	31	0	0	0	0
H31	-0.991	-0.567	1.966	0.316	14	0	0	0	0	0
H51	-3.887	-2.365	0.147	0.319	11	0	0	0	0	0
H71	-5.214	2.98	-0.333	0.319	12	0	0	0	0	0
H31	3.807	2.066	1.959	0.319	22	0	0	0	0	0
H41	6.194	0.918	0.361	0.319	21	0	0	0	0	0
H2'	1.805	1.195	1.119	0.054	20	0	0	0	0	0
H5'	4.745	-1.253	-1.965	0.054	17	0	0	0	0	0
H6'	2.304	-1.577	-2.084	0.053	16	0	0	0	0	0
H2'	0.105	-0.697	-1.56	0.043	6	0	0	0	0	0
H3	0.391	-2.556	0.058	0.062	5	0	0	0	0	0
H8	-1.376	2.798	-0.344	0.055	7	0	0	0	0	0
H6	-5.48	0.709	-0.124	0.055	9	0	0	0	0	0

Apéndice B

3.6. Proceso de minimización y programas

El proceso que utilizamos para encontrar los mínimos de energía se realizó a través de un tratamiento de datos que inicia con las geometrías de las moléculas involucradas; los isómeros DHQ y moléculas de agua (geometría de la referencia [2,3]).

Las cargas de la molécula de agua se calcularon en trabajos anteriores, para la molécula DHQ el cálculo de las cargas involucra un conjunto de programas en COQ.BAT, para cargas ? CPI.EXE y CSIG.EXE para cargas ? y MOLMED.EXE para la obtención final de las cargas.

El programa RAMBAS6.EXE tiene los archivos de datos DHQ.MOL (lo transformamos a VAR.DAT) que tiene las cargas y tipos. El archivo BASE5.DAT tiene las instrucciones para efectuar los cálculos como el número de mínimos a calcular, los parámetros del volumen, el número de corridas por mínimo etc. Con los programas visualizadores OXFORD y HYPERCHEM ver.7 se ven los archivos de salida *.MOL y *.ENT este último con extensión PDB

Utilizamos el software EXCEL para depurar los miles de datos encontrados y escogemos los pares de bases de mínima energía. Por último el programa Paint para la representación final de las figuras.

Conclusiones

Realizamos los cálculos con el método de Mecánica Molecular y generamos cientos de estructuras de complejos de mínima energía de un isómero de la molécula DHQ con una molécula de agua. Inicialmente se hacen cálculos con el isómero 2R3R utilizando el método de optimización de steepest descent, a los mínimos encontrados hicimos una minimización más fina con el método del Gradiente conjugado, los resultados son prácticamente los mismos, por lo tanto para los restantes solo se realizan con el primer método, para barrer miles de posibles estructuras. En este isómero el mínimo más profundo hace un enlace con O4'. Para el isómero 2S3S los mínimos no son tan energéticos como en 2R3R aunque el más profundo forma casi dos enlaces con el oxígeno carbonil y con el OH en posición 3 (mínimo A, tabla 3.2) Para el isómero 2R3R, se realizaron cálculos de minimización de la energía por los métodos de Mecánica Cuántica de Hartree Fock y en la aproximación MP2/6-31G(d,p) [22], El valor del mínimo del isómero 2R3R se comparo con cálculos de mecánica cuántica [22] en el mínimo más profundo (-10.19 kcal/mol) se forman 2 enlaces de hidrógeno los cuales unen el anillo B con el anillo C dando así una mejor estabilidad a la configuración, este no fue encontrado por nosotros debido a que consideramos las moléculas rígidas sin embargo la configuración que le sigue en energía tiene el valor de -8.67 kcal/mol, este mínimo corresponde con el mínimo B encontrado por nosotros con una energía de 8.31 kcal/mol. Los mínimos en las estructuras 2R3S y 2R3S, la molécula de agua en el mínimo más profundo forma dos enlaces de hidrogeno con DHQ. En el isómero 2R3S se tiene el mínimos más profundo de los cuatro isómeros su energía es de 10.5 kcal/mol, este hace un puente entre el oxígeno carbonilo con el OH en 3, la molécula de agua está completamente fuera del plano del anillo AC (mínimo A) En el dímero tenemos más posibilidades de formar puentes de hidrogeno entre las DHQ como el mínimo A con energía -10.45 kcal/mol que enlaza dos centros del mismo isómero como sucede en 2R3R o bien el puente formado entre los grupos OH de dos diferentes isómeros DHQ (mínimo E). Un complejo cristalizado de dos moléculas DHQ es experimento reportado, con los isómeros 2R3S Y 2S3R. Nuestros cálculos muestran mínimos más profundos (-10.44 kcal/mol), comparables con el isómero 2R3S, como comparación mostramos un cálculo de Monte Carlo donde la molécula de agua hace un puente con las dos moléculas DHQ (Fig. 3.9).

Bibliografía

- [1] I. N. Levin. Química Cuántica, 5a. Ed., Prentice Hall, 2001, pp 362.
- [2] C.J. Essentials of Computational Chemistry, John Wiley y Sons, 2002, pp 157.
- [3] H.A.;D.F. Bradley, Calculation of the lowest Energy Configurations of Nucleotide Base Pairs on the Basis of an Electrostatic Model J. Chem. Phys. 1966, 45, pp 1380.
- [4] V. I. Poltev and Sukhorurukov , B. I., Biofizika (USSR) 12, 1967, pp 763-768.
- [5] Greenberg, J.A.; Dunbar, C.C.; Schnoll, R.; Kokolis, R.; Kokolis, S.; Kassotis, J. Am J Clin Nutr 2007, 85, pp 392.
- [6] H. De Voe and I. Tinoco, The stability of helical polynucleotides: Base contributions, Journal of molecular Biology, 1962, vol. 211, pp 2023.
- [7] Bradley, D. F., Lifson, S., Honig, B. Dans "Electronic Aspects of Biochemistry", B. Pullman ed. pp 77, Academic Press, New York.
- [8] Fredholm B. B., Ijzerman A. P., Jacobson K. A., Klotz K. N., Linden J. Pharmacol Rev 2001, 53 527.
- [9] V.-P. Jaakola, M. T. Griffith, M. A. Hanson, V. Cherezov, E. Y. T. Chien, J. R. Lane, A. P. IJzerman, and R. C. Stevens, Science, vol. 322, no. 5905, pp. 1211-1217, Nov. 2008.
- [10] Daly J. W., Fredholm B. B., Nutrition, Brain and Behavior; Nehlig, A., Ed. CRC Press: Boca Raton, Fl, 2004, p. 1-11.
- [11] J. Linden, FASEB J., vol. 5, no. 12, pp. 2668-2676, Sept. 1991.
- [12] S. A. Rivkees, H. Barbhaiya, and A. P. IJzerman, Identification of the Adenine Binding Site of Human A1 Adenosine Receptor J. Biol. Chem., vol. 274, no. 6, pp. 3617-3621, Feb. 1999.
- [13] D. A. Case, T. A. Darden, T. E. Cheatham III, C. L. Simmerling, J. Wang, R. E. Duke, R. Luo, K. M. Merz, D. A. Pearlman, M. Crowley, R.C. Wlker, W. Zhang, B. Wang, S. Hayik, A. Roithberg, G. Seabra, K. F. Wong, F. Paesani, X. Wu, S. Brozell, V. Tsui, H. Gohlke, L. Yang, C. Tan, J. Mongan, V. Hornal, G. Cui, P. Beroza, D. H. Mathews, C. Schafmeister, W. S. Ross, and P. A. Kollman (2006), AMBER 9, University of California, San Francisco.
- [14] Scott J. Weiner, Peter A. Kollman, David A. Case, U. Chandra Singh, Caterina Ghio, Giuliano Alagona, Salvatore Profete, Jr., and Paul Weiner., A new Force Field for Molecular Mechanical Simulation of Nucleic Acids and Proteins., J. Am. Chem. Soc. 1984, 106:765-784
- [15] W. D. Cornell, P. Cieplak, C. I. Bayly, I. R. Gould, K. M. Merz, Jr., D. M. Ferguson, D. C. Spellmeyer, T. Fox, J. W. Caldwell, and P. A. Kollman, "A second generation force field for the simulation of proteins, nucleic acids, and organic molecules", J. Am. Chem. Soc., vol. 117, no. 19, pp. 5179-5197, May 1995.

- [16] Hypercube, Inc. 2002.
- [17] E. Gonzalez, A. Deriabina, A. Teplukhin, A. Hernández, V.I. Poltev, Monte Carlo Study of Three-Dimensional Organization of Water Molecules around DNA Fragments. *Theo.Chem.Acc.*, v.110, N6, 460-465, 2003.
- [18] Tanja van Mourik, Victor I Danilov, Valery I Poltev, Alexandra S Deryabina, Eduardo Gonzalez; " An electronic structure study of the "hydration shell", of adenine and cytosine"; *Journal of Biomolecular Structure & Dynamics*; 24(6):653-654, 2007 metabolites in man. *J. Pharmac. Exp. Ther.* 224, 180 - 185.
- [19] Bayly C.I., Cieplak P., Cornell W. D. and Kollman A, A Well-Behaved Electrostatic Potential Based Method Using Charge Restraints for Deriving Atomic Charges: The RESP Model, *The Journal of Physical Chemistry*, 1993, Vol. 97, No. 40, pp.10269-10280.
- [20] Cornell W. D., Cieplak P, Bayly C. I., Kollman P. A., .Application of RESP Charges To Calculate Conformational Energies, Hydrogen Bond Energies, and Free Energies of Solvation, *J. Am. Chem. Soc.*, Vol. 115, No. 21, pp. 9620-9631, 1993.
- [21] Jakalan A, Bush L., Jack D. B., Bayly C. I., Fast, Efficient Generation of High-Quality Atomic Charges. AM1-BCC Model: I. Method, *Journal of Computational Chemistry*, Vol. 21, No. 2, pp.132-146, 2000.
- [22] Donald Voet, Judith G., and Charlotte W. Pratt, *Fundamentos de Bioquímica*. Segunda Edición Ed. Panamericana 2007.
- [23] Yuli Liu, Steven K. Burger, Paul W. Ayers, Computational Study of the binding modes of caffeine to the Adenosine A2a receptor, *J. Phys Chem. B* 2011 115, 13880-13890.
- [24] V. I. Poltev, E. Rodriguez, T. I. Grokhlina, A. V. Teplukhin, A. Deriabina, and E. Gonzalez., Computational study of molecular mechanics of caffeine actions., *Proceedings of the International Conference on Applied Computer Science* 51 Page 51-55