



Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
Facultad de Ciencias Físico Matemáticas

**Perfiles Energéticos de Rotación para Quercetina y
Kaempferol por Métodos de Mecánica Molecular**

Tesis presentada al
Colegio de Física

Como requisito parcial para la obtención del grado de
Licenciado en Física

Por
Juan Carlos Sánchez Pérez

Asesorado por
Dra. Alexandra Deriabina
M.C. Veranda Palacios Corte

Puebla Pue.
Diciembre 2016

Título: Elaboración de las expresiones de energía potencial para describir los perfiles de rotación del anillo B, para los flavonoides a partir de cálculos ab-initio, para su inclusión dentro del formalismo de Mecánica Molecular

Estudiante: Juan Carlos Sánchez Pérez

COMITÉ

Índice general

Capítulo 1. Flavonoides Quercetina y Kaemferól	6
1.1. Descubrimiento y estructura de los flavonoides	6
1.2. La biodisponibilidad y síntesis de Quercetina	7
1.3. La biodisponibilidad y síntesis del Kaempferol	10
Capítulo 2. Marco Teórico.....	12
2.1. Métodos Teóricos para el Estudio de las Estructuras Moleculares.	12
2.2. Mecánica Molecular.....	13
2.3. Campo de fuerzas GAFF.....	14
2.4. Métodos de Estructura Electrónica.....	15
2.5. La ecuación de Schrödinger.....	15
2.6. Orbitales Hidrogenoides.....	17
2.7. Orbital Molecular.....	18
2.8. Aproximación de Born-Oppenheimer.....	19
2.9. Aproximación de Hartree-Fock.....	21
2.10. Operador de Hartree-Fock y el determinante de Slater.....	22
2.11. Conjuntos Base	29
Capítulo 3. Metodología.....	33
3.1. Software.....	33
3.2. Procedimiento.....	34
3.3. Optimización de la geometría	36
Capítulo 4. Resultados	38
Conclusiones.....	48
Referencias	49

Indice de Figuras.

Figura I.I Estructura y numeración de la molécula de Quercetina.....	2
Figura I.II Estructura reportada del complejo IRE1-RNasa con Quercetina (Wiseman, 2010)	2
Figura I.III Actividad de la IRE1-RNasa como función del tiempo, con adicionamiento de diferentes flavonoides reportado en (Wiseman, 2010).....	3
Figura I.IV Estructura y numeración de la molécula de Kaempferol.....	4

I. Introducción

Los Flavonoides constituyen una importante gama de las moléculas que son necesarias para el funcionamiento correcto del organismo, son compuestos naturales producidos como metabolitos secundarios de las plantas, descubiertos por el ganador del premio Nobel Dr. Albert Szent-Gyorgi en 1930 (Martínez, González, Culebras, & Tuñón, 2002).

Los flavonoides son motivo de interés debido a sus propiedades antioxidantes (Bonina, 1996), también actúan como moduladores de rutas de señalización celular (Russo, Spagnuolo, Tedesco, Bilotto, & Russo, 2012), convirtiéndolos en una herramienta en el tratamiento de algunos tipos de cáncer. Además, estudios previos han encontrado que poseen efectos benéficos en la protección de los vasos sanguíneos, prevención de diabetes, y efectos cardiovasculares positivos (Kaneider, Mosheimer, Reinisch, Patsch, & Wiedermann, 2004), por lo cual su inclusión en la dieta humana es altamente recomendada.

Los flavonoides se componen de dos anillos de benceno (A y C) y un anillo de pirona (B) (Figura I.I), éstos anillos pueden tener unidos grupos hidroxilos o un grupo funcional que determinará nuestro compuesto.

El flavonoide más común es la Quercetina (Q) y puede encontrarse principalmente en frutas y vegetales, mayormente en la cebolla. La molécula Q se caracteriza por tener un grupo catecol en el anillo B y un grupo hidroxilo en el anillo C (Químicas, MERCK S. A. Industrias, 2000) como se puede apreciar en la Figura I.I.

De la familia de flavonoides la Quercetina posee las propiedades antioxidantes más potentes (Escamilla, Cuevas, & Guevara, 2009), pero una gran parte de su actividad biológica se debe a su interacción con las proteínas de las células.

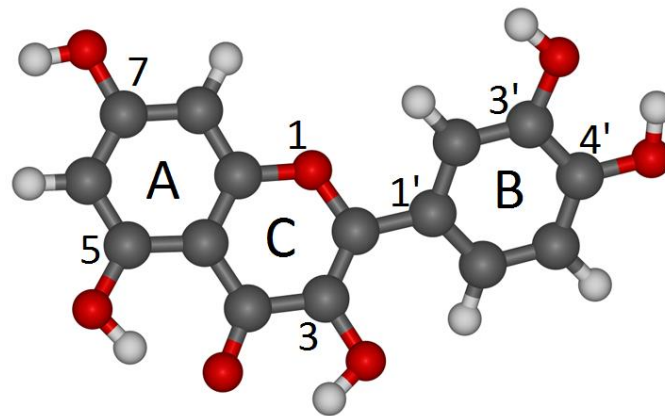


Figura I.I Estructura y numeración de la molécula de Quercetina.

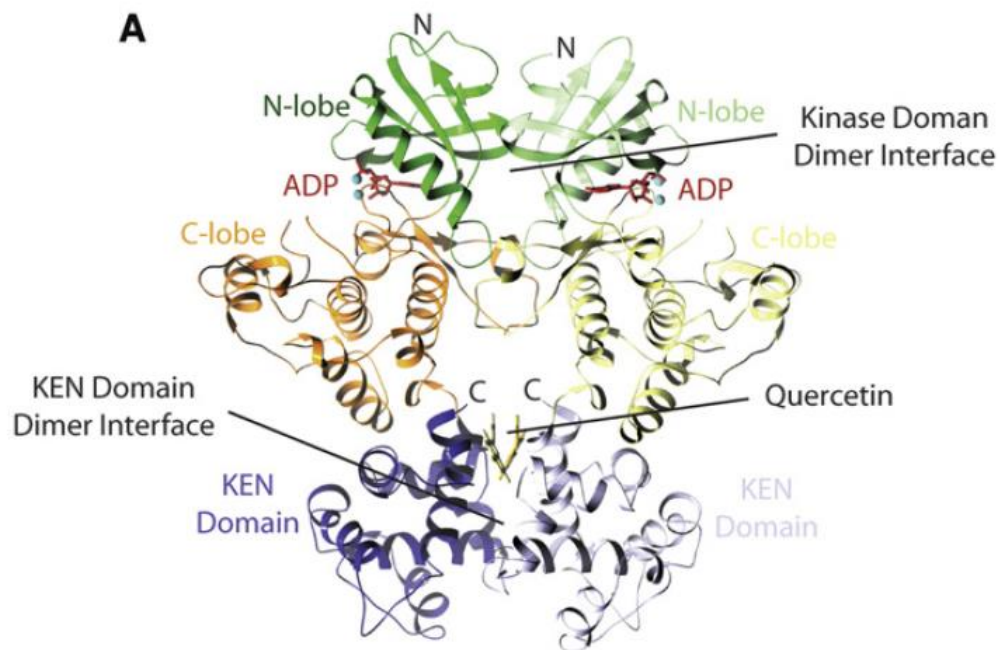


Figura I.II Estructura reportada del complejo IRE1-RNasa con Quercetina (Wiseman, 2010)

Como, por ejemplo, en el estudio (Wiseman, y otros, 2010) se ha reportado que la presencia de un dímero de Quercetina(Q) ligado a la proteína IRE1-Rnasa (Figura I.II) lleva a la activación de la proteína, lo cual contribuye a la acción anticancerígena. Es por ello la importancia de desarrollar un estudio que pueda describirnos las características de este tipo de sistemas.

Los otros flavonoides estudiados por Wiseman y col. muestran menor efecto sobre la IRE1-RNasa (ver Figura I.III). Como es el caso del Kaempferol (K) segundo compuesto con mayor actividad después de Q, se diferencia de Q estructuralmente por la ausencia del grupo hidroxilo en la posición 3' (Figura I.IV)

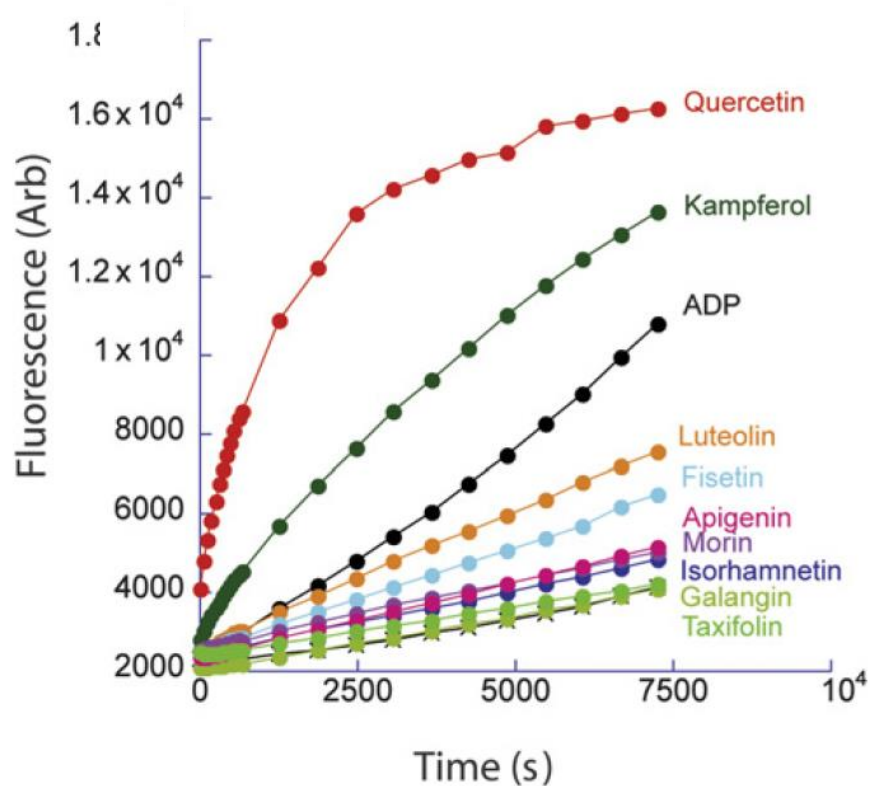


Figura I.III Actividad de la IRE1-RNasa como función del tiempo, con adición de diferentes flavonoides reportado en (Wiseman, 2010)

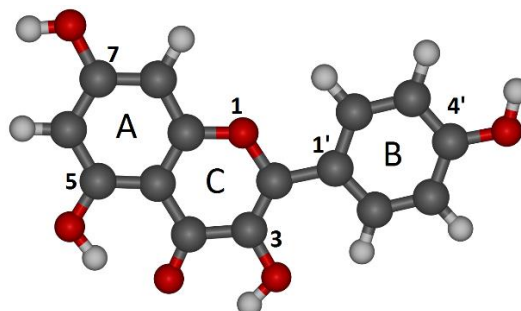


Figura I.IV Estructura y numeración de la molécula de Kaempferol

La actividad de Q y K, así como las diferencias que se presentan, pueden ser estudiadas utilizando la simulación computacional de las interacciones de las moléculas de proteína en cuestión con los flavonoides. El estudio computacional de proteínas tan grandes como la IRE-1NASA se limita a los métodos de mecánica molecular dado los altos costos computacionales que presentan los métodos *ab-initio*, sin embargo, para el estudio de la estructura de una sola molécula de Q existen diversos métodos *ab initio*, y con estos se han caracterizado las diferentes propiedades estructurales de Q (Solís, 2015), incluyendo los perfiles energéticos de la rotación del anillo B .

La parte esencial del método de mecánica molecular es el campo de fuerza que se utiliza. Hay diferentes campos de fuerzas elaborados especialmente para describir las interacciones dentro de las proteínas, entre los cuales se encuentran AMBER “Assisted Model Building with Energy Refinement” (Case, y otros, 2016), CHARMM “Chemistry at HARvard Macromolecular Mechanics” (Vanommeslaeghe, y otros, 2010), GROMOS “GRONingen MOlecular Simulation” (Gunsteren, 1995). Sin embargo, a los últimos dos es más difícil incluir interacciones con los ligandos que no pertenecen al grupo de las proteínas. En cambio, dentro del enfoque de AMBER las moléculas no-estándar han sido consideradas en un campo especial que puede ser usada conjunto con el campo desarrollado en proteínas: GAFF “General Amber Force

Field” (Wang, Caldwell, Kollman, & Case, 2004), que al ser un campo de fuerzas general considera las particularidades que puedan presentar algunas moléculas como proteínas o ácidos nucleicos. En el caso de las moléculas de Quercetina y Kaemferol, el parámetro importante que considerar es el cambio de la energía al rotar el anillo B.

En este trabajo realizamos la comparación de los perfiles energéticos para Q y K al rotar el anillo B obtenidos por dos métodos: método de mecánica molecular con el campo de fuerzas GAFF (Wang, Caldwell, Kollman, & Case, 2004) y el método *ab-initio* Hartree-Fock (HF) (Slater, 1950) utilizando el conjunto base 6-31G(d,p). Se ha mostrado anteriormente (Palacios, 2015) que los resultados para los perfiles obtenidos con el método más exacto MP2/6-31G(d,p) (Møller & Plesset, 1934) muestran los resultados muy cercanos a los de HF.

En el capítulo uno se hace una revisión de los flavonoides y las particularidades de Quercetina y Kaempferol, sus propiedades principales, así como sus respectivos procesos de síntesis.

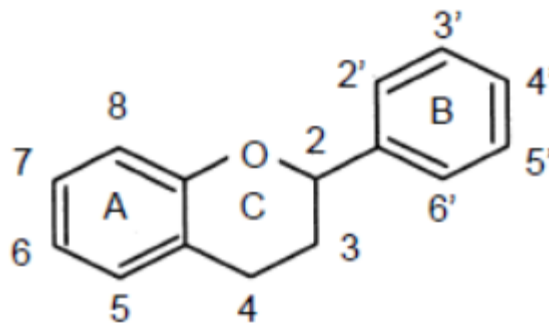
En el capítulo dos se describe la teoría tanto de Mecánica Molecular (MM) como de los Métodos de Estructura Electrónica, (MEE), que se utilizaron para este trabajo.

En el capítulo tres se menciona el software utilizado para la implementación de los métodos MM y MEE y el algoritmo que se siguió para cada uno.

Capítulo 1. Flavonoides Quercetina y Kaemferól

1.1. Descubrimiento y estructura de los flavonoides

Los flavonoides son moléculas compuestas por una serie de metabolitos secundarios sintetizados por las plantas a partir de una molécula de fenilalanina y 3 de malonil-CoA a través del proceso que lleva el nombre de “vía biosintética de los flavonoides”. Los flavonoides están presentes en frutas y vegetales, protegen el organismo de daños provocados por rayos ultravioletas, contaminación y sustancias nocivas que pueden encontrarse en algunos alimentos. Se descubrieron en 1930 por Sent György al aislar la sustancia llamada citrina de la cáscara del limón. El término flavonoide proviene etimológicamente de la palabra “flavo” que significa color oro o miel. En un principio fueron denominados vitamina P o C₂, ya que compartían ciertas propiedades con la vitamina C, sin embargo, los estudios no pudieron confirmar que fueran vitaminas y la denominación se dejó de lado. Son compuestos de bajo peso molecular y comparten un esqueleto común, consta de dos anillos fenilos A y B que están unidos gracias a un tercer anillo pirano C (Figura 1.1).



ξ

Figura 1.1 Estructura y numeración de los átomos de los flavonoides.

1.2. La biodisponibilidad y síntesis de Quercetina

Su estructura se caracteriza por tener cinco grupos hidroxilos (OH) en las posiciones 3, 3', 4', 5 y 7 de la estructura general mostrada en la Figura 1.1. Es sintetizada por la acción de las enzimas chalcona sintasa y flavonol sintasa. Es el flavonoide más consumido en la dieta humana con un porcentaje alrededor de 60%-75% de los flavonoides conocidos (Hertog & Hollman, 1996). Las principales fuentes de Quercetina corresponden a frutas y vegetales, en la siguiente tabla se muestran las principales fuentes con la cantidad correspondiente.

Tabla 1.1 Contenido de Quercetina en las fuentes alimenticias según los datos (Rueda, 2015)

Alimento	Cantidad Promedio (líquidos mg/100 Ml) (sólidos mg/100 g PC)
Chocolate	
Vino tinto	0.83
Vino blanco	0.04
Vino espumoso	0.009
Cerveza	0.007
Jugo de naranja	1.06
Jugo de pomelo	0.63
Jugo de manzana	0.34
Jugo de granada	0.25

Jugo de arándano rojo	0.10
Té negro	0.09
Bayas de saúco	42.0
Arándano Azul y rojo	1.27
Manzana	0.12
Frambuesa	0.02
Almendras y pistaches	0.02
Cebolla cruda	2.0
Cebolla roja	1.29
Cebolla amarilla	0.28
Cebolla blanca	0.03
Tomate	0.004
Harina de trigo integral	0.11
Harina de trigo refinada	0.08
Orégano	42.0
Alcaparra	32.8
Clavo	28.4

Según el estudio realizado por (Aguirre, 2011) en la dieta humana la mayor parte de Quercetina consumida proviene aproximadamente 65% de la cebolla (Hollman, 1996), diariamente se las personas con una dieta ordinaria ingieren de $5_{mg/d}$ a $40_{mg/d}$ (Hertog, Kromhout, Aravanis, Blackburn, & Buzina, 1995), para individuos con un alto índice en consumo de frutas y verduras el rango va de $200_{mg/d}$ a $500_{mg/d}$ (Harwood, Danielewska, Borzelleca, & Flamm, 2007).

La Quercetina es sintetizada en plantas por medio de la Fenilalanina que es convertida a 4-coumaroil-CoA. A la cual se le adhieren 3 moléculas de malonil-CoA para formar tetrahidroxichalcona, que posteriormente es convertida en naringenina usando chalcona isomerasa.

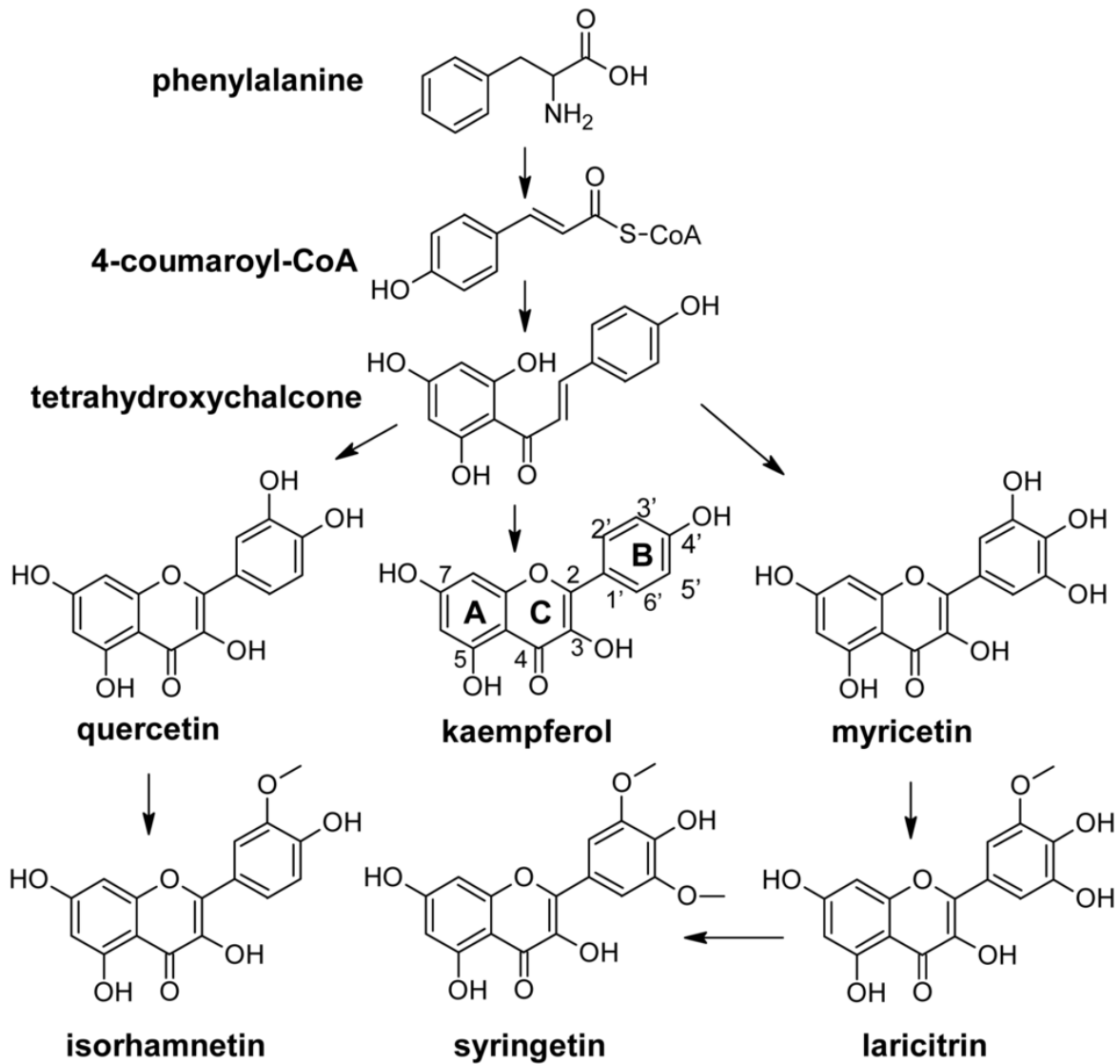


Figura 1.2 Esquema de la síntesis de los flavonoides.

La naringenina se convierte en eriodictiol usando el flavonoide 3'-hidroxilasa. Posteriormente el eriodictiol es convertido en dihidroquercetina usando el flavonoide 3-hidroxilasa. Por último se convierte en quercetina usando flavonol sintasa (Winkel, 2001).

1.3. La biodisponibilidad y síntesis del Kaempferol

Kaempferol es un flavonol que puede ser aislado de distintas fuentes, entre ellas: té verde, brócoli, avellana de brujas, uvas, coles de Bruselas y manzanas, su solubilidad en agua es alta. El Kaempferol posee propiedades medicinales de las que destaca la prevención de cáncer pancreático en un 23% (Nöthlings, Murphy, Wilkens, Henderson, & Kolone, 2007), además de tener propiedades antidepresivas (Hossein, Motamedshariaty, & Farzin, 2007).

Como muchos otros flavonoides el Kaempferol puede ser beneficioso o dañino dependiendo de la cantidad en que se ingiere (Ross & Kasum, 2002), se ha reportado en estudios *in-vitro* que tiene características mutagénicas y oxidantes, ya que reduce los radicales libres en los enlaces de hidrógeno transformándolo en un radical phenoxyl (Jørgensen, Cornett, Justesen, Skibsted, & Dragsted, 1998), sin embargo, no hay pruebas de este tipo de reacciones en casos *in-vivo*.

El esquema del proceso de síntesis de Kaempferol se muestra en la Figura 1.3, es sintetizado a partir de la condensación de 4-coumaroil-CoA con tres moléculas de malonil-CoA bajo una acción catalítica de la chalcona sintasa produciendo naringenina-chalcona. Después, bajo los efectos catalíticos de la chalcona isomerasa, la naringenina-chalcona es transformada en una flavanona naringenina. Consecuentemente un grupo hidroxilo es añadido a la naringenina en la posición C3 para producir dihidrokaempferol bajo la actividad de la flavanona 3-dioxigenasa. Como paso final el kaempferol es producido a través de la formación de un doble enlace en la posición C2-C3 de la estructura del dihidrokaempferol (Calderon, Burgos, Pérez, & López, 2011).

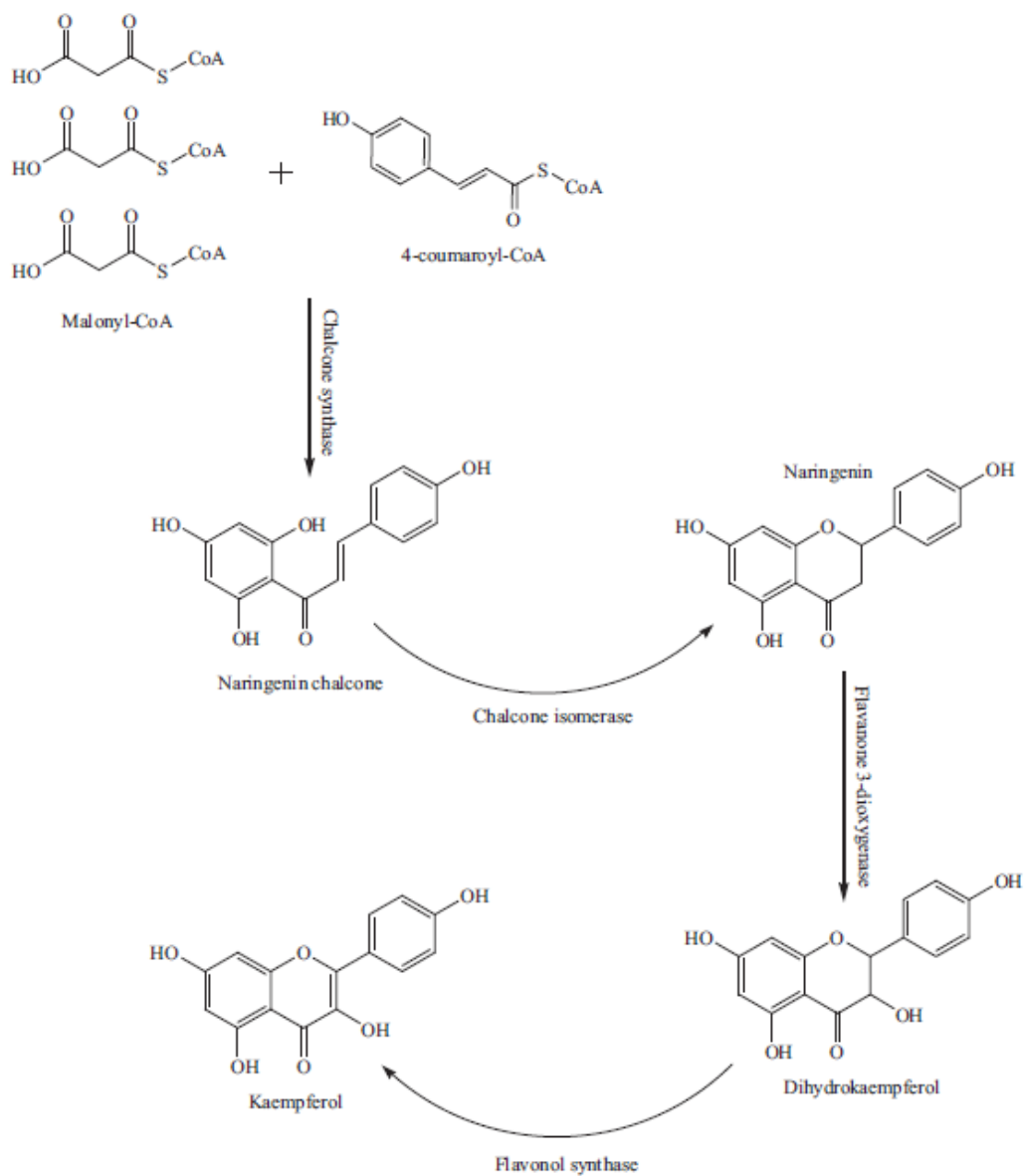


Figura 1.3 Proceso esquemático de la síntesis de Kaempferol (Devi, 2015).

Capítulo 2. Marco Teórico

2.1. Métodos Teóricos para el Estudio de las Estructuras Moleculares.

La Biofísica Computacional nos permite estudiar las estructuras de las moléculas biológicas junto con sus características mediante dos principales métodos. Por una parte, tenemos los Métodos de Estructura Electrónica (MEE) que basan su teoría en principios de la Mecánica Cuántica aplicada a sistemas atómicos o moleculares. Por otro lado, la Mecánica Molecular (MM) utiliza leyes de la Mecánica Clásica considerando a los átomos como partículas puntuales que interactúan debido a sus cargas eléctricas y enlaces que actúan como osciladores armónicos.

Ya sea por MM o por MEE podemos obtener la característica molecular más importante: la energía del sistema, la cual queda determinada por una serie de factores que son: la conformación de la molécula, momento dipolar, frecuencias vibracionales, ect.

El estado conformacional más favorable de un sistema molecular corresponde a al arreglo geométrico con el valor de energía más bajo posible, el cual es llamado “mínimo de energía global”. Además de mínimo global el sistema puede permanecer en otros mínimos de energía, llamados locales.

2.2. Mecánica Molecular

Existen diversas variantes de MM, sin embargo, todas comparten la característica de estar basadas en las mismas leyes de la física clásica. Se diferencian principalmente por el tipo de ecuaciones, tipo de átomos y en el conjunto de parámetros que se ajustan a valores experimentales para cada par de átomos, estas tres características dan lugar a un campo de fuerzas que posteriormente puede ser implementado en un método de MM. En la MM se considera al átomo como una esfera suave con un radio r y una carga q . El valor de la carga se asigna para la mayoría de los campos a partir de los cálculos cuánticos.

La ecuación que determina la energía de interacción de un par de átomos se propone principalmente como una suma de términos que pueden apreciarse en la siguiente ecuación:

$$E_T = E_b + E_a + E_t + E_{aa}$$

Ecuación 2.1

El término E_b describe la energía de estiramiento que proviene del cambio en la longitud de los enlaces que unen dos átomos (ver Figura 2.1a), E_a corresponde a la energía de curvatura que existe entre tres átomos cuando éstos forman un ángulo con dos enlaces químicos (ver Figura 2.1b), E_t se asocia a la energía de torsión se da entre 4 átomos que forman 3 enlaces ver (ver Figura 2.1c), el último término detalla interacciones de átomos que no están enlazados, estas interacciones pueden ser de Van der Waals, contribuciones electrostáticas o por la formación de puentes de hidrógeno.

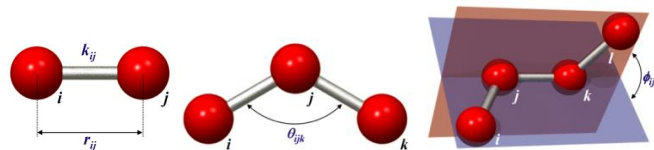


Figura 2.1 Ilustración de los términos enlazantes de la ecuación 2.1.

Una desventaja de los MM es que no se toman en cuenta los efectos electrónicos y como consecuencia no podemos tratar situaciones en las que se tengan que considerar dichos efectos. Para este trabajo se utilizó el campo de fuerzas GAFF (Wang, Caldwell, Kollman, & Case, 2004) implementado en el programa AMBER9 (Case, y otros, 2006).

2.3. Campo de fuerzas GAFF

Nombrado así por sus siglas en inglés (General Amber Force Field) (Wang, Caldwell, Kollman, & Case, 2004), GAFF es un campo de fuerzas compatible con el campo de fuerza de AMBER, sus funciones son principalmente aplicables a moléculas pequeñas, contiene los parámetros necesarios para hacer cálculos con moléculas orgánicas que contienen C, N, O, H, S, P, F, Cl, Br e I. La función principal que se utiliza en éste campo de fuerzas se presenta en la Ecuación 2.2.

$$E_{Pair} = \sum_{\text{enlaces}} K_r (r - r_{eq})^2 + \sum_{\text{ángulos}} K_\theta (\theta - \theta_{eq})^2 + \sum_{\text{diédros}} \frac{V_n}{2} [1 + \cos(n\phi - \gamma)] + \sum_{i < j} \left[\frac{A_{ij}}{R_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{R_{ij}^6} + \frac{q_i q_j}{\epsilon R_{ij}} \right]$$

Ecuación 2.2

Donde r_{eq} y θ_{eq} son parámetros de equilibrio estructural, K_r , K_θ y V_n son constantes de fuerza, n es la multiplicidad y γ es la fase del ángulo de torsión. Para trabajar en el campo de fuerzas GAFF es necesario tomar datos con cargas calculadas con la base HF/6-31G* RESP, método utilizado para moléculas de mayor tamaño. Los parámetros de Van der Waals son los mismos que se utilizan en el campo de fuerzas de AMBER (Case, y otros, 2016).

2.4. Métodos de Estructura Electrónica

En este método se usan principios de mecánica cuántica, para hallar una forma aproximada de resolver total o parcialmente la ecuación de Schrödinger y así obtener información acerca de la energía del sistema. Existen tres principales grupos de métodos de estructura electrónica: métodos *ab-initio*, funcionales de densidad (DFT) y métodos semi-empíricos.

La utilidad que se le atribuye a método DFT es que no se busca obtener la función de onda molecular, sino que calcula la energía electrónica a partir de la densidad electrónica molecular ρ , lo que en teoría debe de reducir el tiempo de procesamiento, aunque en práctica hasta ahora el costo computacional es similar al de los cálculos *ab-initio* con método de Hartree Fock.

En nuestros cálculos se usaron métodos *ab-initio* que significa “de primeros principios” para obtener una solución aproximada de la ecuación de Schrödinger.

Una de las ventajas trabajar con métodos *ab-initio* es que no es necesario considerar resultados experimentales puesto que se basan en constantes atómicas fundamentales. Para facilitar la solución se introducen funciones base que para los orbitales moleculares generalmente de tipo gaussianas. Uno de los principales métodos de estudio *ab-initio* es Hartree-Fock (HF), que fue el utilizado para la obtención de los resultados de este trabajo.

2.5. La ecuación de Schrödinger

Como se comentó anteriormente los cálculos MEE se basan en principios de la mecánica cuántica, ya que para describir el movimiento de las partículas de nuestro sistema es necesario hacer uso de la ecuación de Schrödinger.

$$\left\{ -\frac{h^2}{8\pi m} \nabla^2 + V \right\} \Psi(\vec{r}, t) = \frac{ih}{2\pi} \frac{\partial \Psi(\vec{r}, t)}{\partial t}$$

Históricamente se construyó esta ecuación llamada función de onda para expresar la dualidad que tienen como propiedad las partículas subatómicas (comportamiento de onda y partícula), no obstante, también describe la densidad de probabilidad de distribución de la partícula en El espacio.

$$|\Psi|^2 = \Psi\Psi^*$$

Es posible obtener una ecuación que no contenga solo una, sino una colección de partículas que conforman el sistema molecular, pero para esto es necesario considerar un vector \vec{r} que represente las posiciones de cada una de ellas.

Existen dos formas de representar la ecuación de Schrödinger en relación al potencial V , ya sea dependiente del tiempo o bien independiente del tiempo, éste último caso nos permite simplificar los cálculos para resolver la ecuación Schrödinger proponiendo que la función de onda en cuestión es un producto de dos términos, una función que depende de las posiciones y otra que depende del tiempo.

$$\Psi(\vec{r}, t) = \psi(\vec{r}) \cdot \psi(t)$$

La última ecuación da lugar a una expresión general que es posible encontrar en diversos estudios afines a mecánica cuántica y que describe el comportamiento de la función de onda cuando no hay dependencia en el tiempo.

$$\hat{H}\psi(\vec{r}) = E\psi(\vec{r})$$

Donde E representa la energía total del sistema y \hat{H} es el operador Hamiltoniano. Las distintas soluciones que puede tener esta ecuación representan cada uno de los estados energéticos de nuestro sistema molecular. Cuando la energía adquiere el valor de energía más bajo posible es llamado el “estado base”.

2.6. Orbitales Hidrogenoides

Los átomos hidrogenoides son átomos formados por un núcleo y un solo electrón. Se llaman así porque son isoelectrónicos con el átomo de hidrógeno y, por tanto, tendrán un comportamiento químico similar. Éstos orbitales son de gran utilidad ya que se pueden obtener funciones reales a partir de combinaciones lineales de funciones complejas. Las principales funciones reales obtenibles de dichas combinaciones lineales son:

- $1s = \frac{1}{\pi^{1/2}} \left(\frac{Z}{a}\right)^{3/2} e^{-\frac{Zr}{a}}$
- $2s = \frac{1}{4(2\pi)^{1/2}} \left(\frac{Z}{a}\right)^{3/2} \left(2 - \frac{Zr}{a}\right) e^{-\frac{Zr}{2a}}$
- $2p_z = \frac{1}{4(2\pi)^{1/2}} \left(\frac{Z}{a}\right)^{5/2} e^{-\frac{Zr}{2a}} \cos \theta$
- $2p_x = \frac{1}{4(2\pi)^{1/2}} \left(\frac{Z}{a}\right)^{5/2} e^{-\frac{Zr}{2a}} \sin \theta \cos \phi$
- $2p_y = \frac{1}{4(2\pi)^{1/2}} \left(\frac{Z}{a}\right)^{5/2} e^{-\frac{Zr}{2a}} \sin \theta \sin \phi$
- $3s = \frac{1}{81(3\pi)^{1/2}} \left(\frac{Z}{a}\right)^{3/2} \left(27 - 18\frac{Zr}{a} + 2\frac{Z^2r^2}{a^2}\right) e^{-\frac{Zr}{2a}} \sin \theta \sin \phi$
- $3p_x = \frac{1}{81(3\pi)^{1/2}} \left(\frac{Z}{a}\right)^{5/2}$

Cabe recalcar que estas funciones de onda fueron obtenidas a partir de funciones de onda con un solo electrón, en nuestro caso los átomos son polielectrónicos por lo

que hacer uso de éstas ecuaciones es únicamente una aproximación y no representan de forma precisa nuestro sistema.

2.7. Orbital Molecular

Como se mencionó anteriormente, se conoce la función de onda para un átomo de hidrógeno, pero sigue siendo un problema encontrar una función de onda exacta para un sistema molecular polielectrónico, es por ello que se recurre a funciones de onda aproximadas obtenidas de hacer uso de métodos como el de Hartree Fock que permite definir una función de onda más apropiada.

El orbital molecular, al igual que el orbital hidrogenoide es una función de onda para un sistema monoelectrónico, el Hamiltoniano considera la atracción que se da entre el electrón y el núcleo atómico, así como la repulsión que experimenta con el resto de los electrones de nuestro sistema molecular. Definiendo al número de electrones y al número de núcleos como M , nuestro Hamiltoniano está dado por la siguiente expresión:

$$H = - \sum_{i=1}^N \frac{1}{2} \nabla_i^2 - \sum_{A=1}^M \frac{1}{2M_A} \nabla_A^2 - \sum_{i=1}^N \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum_{i=1}^N \sum_{j>1}^N \frac{1}{r_{ij}} + \sum_{A=1}^M \sum_{B>A}^M \frac{Z_A Z_B}{R_{AB}}$$

Los subíndices en los Laplacianos indican el i -ésimo electrón y el A -ésimo núcleo, M_A es la relación que tiene la masa del núcleo con la masa del electrón, cada término de la suma está asociado a una interacción entre partículas, en específico: el primer término corresponde a la energía cinética de los electrones, el segundo representa el operador de energía de los núcleos, el tercero reproduce la atracción entre el núcleo y el electrón y el último se atribuye a la repulsión entre los núcleos.

2.8. Aproximación de Born-Oppenheimer

Es una aproximación fundamental que nos permite desacoplar el movimiento electrónico y nuclear, se sustenta en la inminente diferencia de masas presente en éstas dos partículas subatómicas, se considera que la velocidad del núcleo es pequeña comparada con la de los electrones, con esta superposición puede asumirse que los electrones reaccionan inmediatamente a la posición de los núcleos en lugar de su velocidad. Esta consideración es necesaria para problemas de física molecular o física de estado sólido, ya que de lo contrario nos enfrentaríamos a problemas irresolubles de dos cuerpos.

Matemáticamente, es posible desacoplar los movimientos, expresando la función de onda del sistema como un producto de dos funciones de onda, cada una correspondiente al electrón y la otra al núcleo.

$$\Psi_{total}(r, R) = \Psi_{el}(r, R)\chi_{nuc}(R)$$

Donde (r, R) representa una dependencia de la nube electrónica en relación la posición de los núcleos. Se introduce la expresión anterior en la ecuación de Schrödinger, de esta forma se obtiene la expresión propuesta por Born y Oppenheimer dada por la siguiente ecuación.

$$H_{el}\Psi_{el}(r, R_0) = E_{el}(R_0)\Psi_{el}(R_0)$$

En la cual R_0 representa una posición fija de los núcleos y el término $E_{el}(R_0)$ es la energía electrónica determinada por la posición de los núcleos, que físicamente representa la superficie de energía potencial (PES). al ser el movimiento de los núcleos despreciable, tenemos como consecuencia una energía cinética igual a cero y el término que representa la repulsión entre los núcleos pasa a ser constante.

$$H = - \sum_{i=1}^N \frac{1}{2} \nabla_i^2 - \underbrace{\sum_{A=1}^M \frac{1}{2M_A} \nabla_A^2}_0 - \sum_{i=1}^N \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum_{i=1}^N \sum_{j>1}^N \frac{1}{r_{ij}} + \underbrace{\sum_{A=1}^M \sum_{B>A}^M \frac{Z_A Z_B}{R_{AB}}}_{cte.}$$

Cabe resaltar que la función de onda a satisfacer debe cumplir con dos principales condiciones, la primera es que el cuadrado de su módulo sea igual a 1, lo cual representa la densidad de encontrar la partícula en un punto determinado del espacio, si esto no es así se recurre a multiplicar por una constante de normalización N .

$$\int |N\Psi_{elec}(r, R_0)|^2 dr = 1$$

La segunda condición es que la función de onda electrónica sea antisimétrica al intercambio de partículas, esto es debido a que los electrones son al mismo tiempo fermiones, lo cual corresponde al hecho que obedecen a la estadística de Fermi-Dirac verificando así, el principio de exclusión de Pauli, esto es que los electrones forman un conjunto indistinguible, por ello se recurre a expresarlo como un determinante que recibe el nombre de “determinante de Slater” el cual está dado de la siguiente manera:

$$\Psi = (N!)^{1/2} \begin{vmatrix} \chi_1(x_1) & \chi_2(x_1) & \dots & \chi_N(x_1) \\ \chi_1(x_2) & \chi_2(x_2) & \dots & \chi_N(x_2) \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ \chi_1(x_N) & \chi_2(x_N) & \dots & \chi_N(x_N) \end{vmatrix}$$

El término $(N!)^{1/2}$ es un factor de normalización, este determinante es bastante útil ya que gracias a él se satisface el principio de exclusión de Pauli para N electrones en N orbitales, en caso de haber 2 electrones en un solo orbital se interpreta matemáticamente como 2 columnas idénticas, lo cual anula al determinante. El determinante de Slater constituye la función de onda antisimétrica más simple para

describir un sistema con N electrones en estado base, para una función de onda molecular es común recurrir a la siguiente notación para señalar dicho determinante

$$|\Psi_0\rangle = |\chi_i \chi_j \dots \chi_k\rangle$$

De esta manera se tiene que la energía total de nuestro sistema será la suma de la energía eléctrica más la constante de repulsión nuclear.

$$E_{total} = E_{elec} + cte.$$

$$E_{total} = E_{elec} + \sum_{A=1}^M \sum_{B>A}^M \frac{Z_A Z_B}{R_{AB}}$$

Se concluye que la energía eléctrica tiene una dependencia paramétrica de la posición de los núcleos.

$$E_{total} = E_{total}(R_A)$$

Lo cual reproduce una superficie de energía potencial. Los puntos críticos de esta superficie dictaminan las geometrías de equilibrio y estados de transición de los sistemas moleculares.

2.9. Aproximación de Hartree-Fock

Consiste en proceso iterativo para obtener la mejor solución posible de la ecuación de Schrödinger independiente del tiempo para sistemas moleculares en

estado excitado o fundamental. Tras aplicar la aproximación de Born-Oppenheimer es posible aproximar el problema de un electrón que interacciona con muchos cuerpos al de un problema de interacción entre dos cuerpos realizando los promedios necesarios y de esa forma obtener una energía total de la molécula, calculando la energía de intercambio, pero ignorando el efecto de la correlación electrónica.

El método utiliza un conjunto de orbitales aproximados, por lo general orbitales hidrogenoides. Para cálculos moleculares las funciones de onda son una combinación lineal de orbitales atómicos, como consecuencia el sistema queda conformado por un conjunto de orbitales monoelectrónicos que por su propiedad antisimétrica se expresa mediante el uso del determinante de Slater.

Como primer paso se construye una función de onda inicial y posteriormente se elige un electrón al cual se agrega el efecto del potencial generado por los demás electrones, el problema se transforma en el de un electrón en un campo definido que se resuelve haciendo uso de la ecuación de Schrödinger obteniendo una función de onda similar a la inicial, éste paso se aplica para cada uno de los electrones consiguiendo cada vez un nuevo potencial eléctrico, el proceso se repite hasta alcanzar una convergencia determinada.

2.10. Operador de Hartree-Fock y el determinante de Slater

Anteriormente se mencionó el término de repulsión entre electrones dentro del Hamiltoniano electrónico molecular, dicho término relaciona coordenadas de dos electrones, es necesario aproximar este término a una forma que pueda aplicarse a nuestro sistema. Para iniciar con la aproximación se expresa el Hamiltoniano como una suma de operadores de un electrón indicados por (1) como una extensión de cada operador a excepción del término de repulsión entre electrones.

$$\hat{F}(1) = \hat{H}^{core}(1) + \sum_{j=1}^{\frac{n}{2}} [2\hat{f}_j(1) - \hat{k}_j(1)]$$

Donde $F(1)$ es el operador de Fock de un electrón, ya que se ha definido la forma de expresar el Hamiltoniano para un electrón se propone expresar el Hamiltoniano molecular de la siguiente manera.

$$H = \sum_{i=1}^N h(i)$$

Donde N simboliza el número de electrones presentes en la molécula, $h(i)$ corresponde a un Hamiltoniano monoeléctrico que contiene la energía cinética y potencial de cada electrón i y adicionalmente la constante de repulsión promedio por parte de los demás electrones. Es posible que el operador $h(i)$ tenga como funciones propias un conjunto de orbitales de spin $\{\chi_i\}$, por lo que:

$$h(i)\chi_j(x_i) = \varepsilon_i\chi_j(x_i)$$

En la expresión anterior x_i representa un conjunto de coordenadas espaciales y el spin del electrón i . Las eigenfunciones de este Hamiltoniano se componen como un producto de los orbitales de spin de cada electrón, a este producto se le conoce como “El producto de Hartree”.

$$\Psi^{HF} = \chi_1(x_1)\chi_2(x_2) \dots \chi_N(x_N)$$

Este producto no es una función correlacionada, puesto que la probabilidad de encontrar a un electrón en un punto dado del espacio no está relacionada con las posiciones que adquieran los demás electrones por ello se recurre a expresarlo por medio del Determinante de Slater antes mencionado

Consiguientemente tenemos que la energía del estado base del sistema está dada como:

$$E_0 = \langle \Psi_0 | H | \Psi_0 \rangle$$

Introduciendo la expresión del Hamiltoniano y haciendo uso de la función de onda molecular ya definida en nuestra ecuación de la energía total, como se puede apreciar en la siguiente expresión.

$$E_0 = \sum_{i=1}^N [i|h|i] + \frac{1}{2} \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N [ii|jj] - [ij|ji]$$

Donde $h(i)$ es un hamiltoniano monoeléctrico que contiene al operador de energía cinética del electrón y a los operadores de energía potencial para las atracciones presentes entre electrones y núcleos.

$$h(i) = -\frac{1}{2} \nabla_1^2 - \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{r_{iA}}$$

Los términos que aparecen entre corchetes simbolizan integrales bielectrónicas (2 electrones), las variables de integración son mudas y siempre se escogen al electrón 1 y 2. Las integraciones actúan sobre las coordenadas y spines de un solo electrón.

$$[i|h|i] = \int \chi_i^*(x_1)h(r_1)\chi_i(x_1)dx_1$$

Las integrales que corresponden al penúltimo término se llaman integrales de Coulomb y declaran la energía potencial de interacción entre un primer electrón y la densidad electrónica que corresponde al segundo electrón. El último término representa las integrales de intercambio que surgen de antisimetrizar las funciones de onda.

$$[ii|jj] = \int \chi_i^*(x_1)\chi_i(x_1)r_{12}^{-1}\chi_j^*(x_2)\chi_j(x_2)dx_1dx_2$$

$$[ij|ji] = \int \chi_i^*(x_1)\chi_i(x_1)r_{12}^{-1}\chi_j^*(x_2)\chi_j(x_2)dx_1dx_2$$

Cuando trabajamos con determinantes de Slater, la energía E_0 es un funcional de los orbitales de spín. Los orbitales varían de una forma metódica cumpliendo la condición de ortonormalidad.

$$\int \chi_i^*(x_1)\chi_i(x_1)dr_1 = [i|i] = \delta_{ij}$$

Donde la delta de Kronecker se define como:

$$\delta_{ij} = \begin{cases} 1 & \text{si } i = j \\ 0 & \text{si } i \neq j \end{cases}$$

Es posible denotar la condición de ortonormalidad como:

$$[ij] - \delta_{ij} = 0$$

Ahora buscamos reducir la expresión de Hartree-Fock respecto al cambio en los orbitales $\chi_i \rightarrow \chi_i + \delta\chi_i$. También asumimos que los orbitales son ortonormales, además queremos asegurarnos que el método variacional aplicado no afecta la ortonormalidad, lo cual se puede comprobar con el método de multiplicadores de Lagrange, en el cual se hace uso del funcional definido como:

$$\mathcal{L}[\{\chi_i\}] = E_{HF}[\{\chi_i\}] - \sum_{ij} \epsilon_{ij} (\langle ij \rangle - \delta_{ij})$$

Donde ϵ_{ij} son los multiplicadores indeterminados de Lagrange y $\langle ij \rangle$ es la superposición de los spines en los orbitales i y j .

$$\langle ij \rangle = \int \chi_i^*(x) \chi_j(x) dx$$

Se establece la primera variación $\delta\mathcal{L} = 0$ e igualando a la ecuación de Hartree-Fock definida para orbitales tenemos:

$$h(x_1)\chi_i(x_1) + \sum_{j \neq i} \left[\int dx_2 |\chi_j(x_2)|^2 r_{12}^{-1} \right] \chi_i(x_1) + \sum_{j \neq i} \left[\int dx_2 \chi_j^*(x_2) \chi_i(x_2) r_{12}^{-1} \right] \chi_j(x_1) = \epsilon_i \chi_i(x_1)$$

Donde ϵ_i es el eigenvalor de la energía asociada al orbital χ_i . Las ecuaciones de Hartree-Fock se pueden resolver numéricamente, la forma de hacerlo es proponer algunos orbitales iniciales y luego hacer un refinamiento iterativamente. Es por esta razón que a éste método se le llama aproximación de campo autoconsistente.

De la ecuación anterior el término representa la interacción de Coulomb de un electrón en un orbital-spín χ_i con una distribución promedio de carga de los demás electrones. Comúnmente llamado “El término de Coulomb”, puede representarse de la siguiente manera:

$$J_j(x_i) = \int dx_2 |\chi_j(x_2)|^2 r_{12}^{-1}$$

Lo cual nos da el potencial promedio debido a la distribución de carga del orbital χ_j en el punto x_1 . El segundo término de la ecuación es similar al término de coulomb a excepción del intercambio de los orbitales-spín χ_i y χ_j , razón por la que es llamado “El término de intercambio”:

$$\sum_{j \neq i} \left[\int dx_2 \chi_j^*(x_2) \chi_i(x_2) r_{12}^{-1} \right] \chi_j(x_1)$$

Del cual se define un “Operador de intercambio” que actúa sobre un orbital spín χ_i arbitrario.

$$\mathcal{K}_j(x_1) \chi_i(x_1) = \left[\int dx_2 \chi_j^*(x_2) r_{12}^{-1} \chi_i(x_2) \right] \chi_j(x_1)$$

Los operadores definidos permiten simplificar la ecuación de Hartre-Fock en un forma condensada y compacta.

$$\left[h(x_1) + \sum_{j \neq i} J_j(x_1) - \sum_{j \neq i} \mathcal{K}(x_1) \right] \chi_i(x_1) = \epsilon_i \chi_i(x_1)$$

Comparando con la ecuación:

$$h(x_1)\chi_i(x_1) + \sum_{j \neq i} \left[\int dx_2 |\chi_j(x_2)|^2 r_{12}^{-1} \right] \chi_i(x_1) + \sum_{j \neq i} \left[\int dx_2 \chi_j^*(x_2) \chi_i(x_2) r_{12}^{-1} \right] \chi_j(x_1) = \epsilon_i \chi_i(x_1)$$

Es más sencillo darse cuenta que las ecuaciones de Hartree-Fock son eigenvalores, observando que:

$$[\mathcal{J}_i(x_1) - \mathcal{K}_i(x_1)]\chi_i(x_1) = 0$$

En donde ya no es necesario incluir la restricción $j \neq i$ en las sumatorias, de esta forma se define un nuevo operador llamado “El Operador de Fock” de la siguiente forma (Sherril, 2000) :

$$f(x_1) = h(x_1) + \sum_j \mathcal{J}_j(x_1) - \mathcal{K}_j(x_1)$$

Por lo que la ecuación de Hartree-Fock se reduce a:

$$f(x_1)\chi_i(x_1) = \epsilon_i \chi_i(x_1)$$

El método de Hartree-Fock es un procedimiento de suma utilidad en física y química para calcular la solución más aproximada de la ecuación de Schrödinger, el método se utilizan ecuaciones de autovalores que determinan los orbitales moleculares (Levine, 2011). El operador de Fock está compuesto por tres principales términos, el operador Coulómbico, el operador de intercambio y el término de energía cinética y potencial. A pesar de que el método no provee de una solución exacta debido a la

utilización de aproximaciones orbitales, es posible mejorar la exactitud utilizando un número cada vez mayor de funciones base (Roetti & Clementi, 1974).

2.11. Conjuntos Base

Los programas computacionales que realizan cálculos moleculares tienen en común el uso de orbitales atómicos, donde se asume que están en el centro del núcleo de los átomos que componen la molécula. Un conjunto base contiene elementos que son llamados funciones base, las cuales pueden ser del tipo Slater o tipo Gaussiano. La evaluación de las integrales tipo Slater es complicada, sin embargo, describen mejor las características funcionales de los orbitales moleculares.

- $\phi_{1s}^{Slater} = \left(\frac{\zeta_1^3}{\pi}\right)^{1/2} e^{-\zeta_1 r}$
- $\phi_{2s}^{Slater} = \left(\frac{\zeta_1^3}{96\pi}\right)^{1/2} r e^{-\zeta_2 r/2}$
- $\phi_{2px}^{Slater} = \left(\frac{\zeta_2^5}{32\pi}\right)^{1/2} r e^{-\zeta_2 r/2}$

Por otra parte, las funciones del tipo gaussiano simplifican los cálculos pero no pueden describir bien el comportamiento funcional para las expresiones de los orbitales moleculares. Las funciones de tipo gaussiano comparten simetría angular con los orbitales atómicos tipo *s* y tipo *p*, las funciones de tipo gaussiano de segundo orden ya no comparten esta característica, pero se pueden combinar para construir funciones de tipo *d*.

-
- $\phi_s^{Gauss} = \left(\frac{2\alpha}{\pi}\right)^{\frac{3}{4}} e^{-\alpha r^2}$
 - $\phi_x^{Gauss} = \left(\frac{128\alpha^5}{\pi^3}\right)^{\frac{1}{4}} x e^{-\alpha r^2}$
 - $\phi_y^{Gauss} = \left(\frac{128\alpha^5}{\pi^3}\right)^{\frac{1}{4}} y e^{-\alpha r^2}$
 - $\phi_z^{Gauss} = \left(\frac{128\alpha^5}{\pi^3}\right)^{\frac{1}{4}} z e^{-\alpha r^2}$
 - $\phi_{xx}^{Gauss} = \left(\frac{2048\alpha^7}{9\pi^3}\right)^{\frac{1}{4}} x^2 e^{-\alpha r^2}$
 - $\phi_{yy}^{Gauss} = \left(\frac{2048\alpha^7}{9\pi^3}\right)^{\frac{1}{4}} y^2 e^{-\alpha r^2}$
 - $\phi_{zz}^{Gauss} = \left(\frac{2048\alpha^7}{9\pi^3}\right)^{\frac{1}{4}} z^2 e^{-\alpha r^2}$
 - $\phi_{xz}^{Gauss} = \left(\frac{2048\alpha^7}{9\pi^3}\right)^{\frac{1}{4}} xz^2 e^{-\alpha r^2}$
 - $\phi_{yz}^{Gauss} = \left(\frac{2048\alpha^7}{9\pi^3}\right)^{\frac{1}{4}} yz^2 e^{-\alpha r^2}$
-

La notación que se utiliza para expresar conjuntos de bases mínimos es STO-XG, donde X es un entero y denota el número de Gaussianas primitivas que forman una función base. Los conjuntos mínimos de bases más utilizados son los siguientes:

- STO-2G
- STO-3G
- STO-6G
- STO-3G

Por lo general los enlaces de una molécula se forman gracias a los electrones de valencia. Es conveniente representar mediante más de una función base a los orbitales de valencia, cada función estará compuesta por una combinación lineal de gaussianas primitivas. La convención que se utiliza para representar conjuntos base de valencia dividida es X-γZg, donde X es el número de Gaussianas primitivas que conforman la función base del orbital atómico del núcleo, Y y Z muestran que los orbitales de valencia están compuestos por dos funciones. El motivo por el que hay dos números después del guion es para indicar que el conjunto base es la valencia dividida doble-zeta. Del mismo modo los conjuntos base de valencia dividida triple-zeta y cuádruple-zeta se expresan como X-YZWg, X-YZWW, y así sucesivamente. Los conjuntos base de valencia dividida más utilizados se muestran a continuación:

- 3-21g
- 3.21g**
- 3-21+g
- 3-21+g*
- 6-31g
- 6-31g**
- 6-31+g
- 6-31+g*
- 6-311g(3df,3dp)

-
- 6-311g
 - 6-311g*
 - 6-311+g*

Para el trabajo realizado se hizo uso del conjunto base de valencia dividida 6-31G(d,p), el cual está conformado por 6GTO's que describen los electrones en los orbitales s, (d,p) indica el grado de libertad que se le otorga a un electrón en el espacio, se les denomina funciones de polarización d y significa que se le agrega la función del orbital d a los átomos pesados (del C al O) y p significa añadir funciones de tipo p a los átomos de hidrógeno.

Capítulo 3. Metodología

Los métodos semiempíricos son llamados así por que introducen una versión simplificada del Hamiltoniano y ajustan los parámetros necesarios para que concuerden con datos de prueba. En métodos *ab-initio* se utilizan métodos de cálculo únicamente teóricos a excepción de las constantes fundamentales, por ello es posible obtener una predicción teórica del resultado en vez de una coincidencia con los resultados experimentales, como consecuencia requerimos de mayores recursos computacionales, pero que gracias a métodos de aproximación como MO-LCAO, HF y Born Oppenheimer se han podido simplificar el procedimiento de cálculo.

3.1. Software

De los estudios previos en que se obtuvo el perfil energético de Quercetina sola y dihidratada (Palacios, 2015) y como resultado se obtuvo un comportamiento gaussiano con mínimos locales bastante cerca entre sí. Es entonces cuando se plantea la duda si es posible obtener un perfil similar para moléculas flavonoides que compartan una estructura semejante. En este trabajo además de la Quercetina se estudia la molécula de Kaemferól, comparando los resultados de dos métodos: Mecánica Molecular y HF.

Los perfiles energéticos con métodos de HF, MP2 y B3LYP con base 6-31G(d,p) fueron proporcionados por (cita Veranda doctorado en proceso), y fueron obtenidos utilizando GAUSSIAN G09 (Robb, Trucks, Schlegel, & Scuseria, 2009). Se usarán los perfiles HF, ya que en dicho trabajo se constató que los perfiles energéticos

para la Quercetina no distan mucho de cálculos con MP2 y que las regiones de mínima energía son mejores que las realizadas con cálculos realizados con el funcional B3LYP.

El software utilizado para el análisis de MM fue el campo de fuerzas GAFF (General Amber Force Field), desarrollado por el equipo (Wang, Caldwell, Kollman, & Case, 2004) e implementado dentro del paquete computacional AMBER9 (Case, y otros, 2006).

GAFF fue diseñado para hacer cálculos de moléculas generales que no son ácidos nucleicos o péptidos utilizando cargas obtenidas con métodos *ab-initio* en el caso de los flavonoides, su tamaño en cuanto a número de átomos es adecuado para trabajar con métodos de mecánica molecular o incluso mecánica cuántica. Para el cálculo de energía además de la posibilidad de rotación del anillo B el sistema permite la rotación de grupos hidroxilo que influyen en la reacción con proteínas. El campo de fuerzas GAFF fue utilizado para realizar los cálculos de energía que posteriormente fueron utilizados en la elaboración de perfiles. Es por ello que se lanzan actualizaciones con mejoras en algoritmos que hacen los cálculos más precisos.

3.2. Procedimiento

El primer paso consistió en obtener una aproximación de las cargas parciales que poseen los átomos en las moléculas de Quercetina y Kaemferol, este procedimiento se realiza en el programa computacional GAUSSIAN mediante Métodos de Mecánica Cuántica. El tipo de cargas que son generadas corresponden a cargas RESP (Restricted Electrostatic Surface Potential) (Weiner, Langridge, Blaney, Schaefer, & Kollman, 1982), posteriormente se ajustan para reproducir el campo eléctrico que existe alrededor de la molécula utilizando métodos *ab-intio*.

Para obtener el valor aproximado de las cargas RESP se realiza un cálculo sin la optimización geométrica (single point) de la molécula con base HF/6-31G*, luego se hace un ajuste de las cargas para reproducir el campo eléctrico alrededor de la molécula, considerando la distribución de los orbitales eléctricos con algunas restricciones en las magnitudes de las cargas inestables.

El algoritmo que se empleó fue el siguiente:

- Se crea un archivo con extensión .xyz que contenga las coordenadas de los átomos de la molécula, para que el programa logre identificar a qué elemento pertenece el átomo se etiquetan con un número determinado.
- El archivo *.xyz se copia en una carpeta en la que contenga otro archivo con las órdenes del cálculo que efectuará GAUSSIAN especificando el conjunto base.
- Una vez calculadas las cargas RESP se utiliza una de las extensiones de AMBER llamada antechamber, la cual reconoce las etiquetas que se le asignaron a los átomos numerados y crea un archivo con extensión *.prepc que reordena las cargas correspondientes a los átomos, su tipo y sus coordenadas.
- Posteriormente se utiliza la aplicación parmchk la cual lee el archivo *.prepc anteriormente creado para dar lugar a uno nuevo con extensión *.frcmod con parámetros adicionales como la longitud de enlace, masa, ángulo de valencia, ángulo de torsión, etc.
- Con la extensión xleap es posible visualizar los archivos *.prepc y *.frcmod, para comprobar que no hay error en los parámetros y es factible seguir con el

procedimiento, una vez comprobado se crean dos nuevos archivos con las coordenadas y tipos de átomos con extensión *.coor y *.tipo respectivamente.

- El paso siguiente es utilizar la aplicación sander, en la que se le indica al programa que realice los cálculos de la energía en diversos sitios hasta encontrar una configuración óptima, esto se determina si se logra una convergencia de los parámetros propuestos por el usuario.
- Una vez finalizada la optimización el programa crea archivos de salida con extensión *.out que contiene detalles de los valores de energía calculada en cada paso y otro con extensión *.outcoor que contiene la coordenadas de los átomos cuando la molécula está optimizada.
- Como paso adicional, se puede generar un archivo *.pdb con las nuevas coordenadas en un formato especial que puede ser leído por casi cualquier programa de visualización molecular a partir de nuestros archivos de salida *.out, *.outcoor y el archivo *.tipo.
- Para la visualización de las estructuras se han utilizado los paquetes computacionales Hyperchem (Hypercube, 1985) y Chemcraft (Grigory, 2008) .

3.3. Optimización de la geometría

El objetivo de realizar una optimización geométrica es encontrar una conformación de la molécula que represente un mínimo de energía, esto se logra en base al algoritmo que contiene combinaciones lineales de orbitales atómicos y que a su vez generan orbitales moleculares, como consecuencia se obtiene una estructura

estable de la que se pueden formular hipótesis que puedan predecir propiedades electrónicas o estructurales. A la relación que existe entre los cambios en la energía y las variaciones en la estructura de la molécula es llamada superficie de energía potencial (SEP). Es posible construir un modelo tridimensional graficando los valores de energía que pertenece a la molécula en los ejes X, Y y Z, de esta forma es posible apreciar gráficamente los máximos y mínimos. Una vez localizado el mínimo local se establece que en ese punto se encuentra la estructura de estabilidad máxima. Utilizando la aproximación de Born-Oppenheimer puede establecerse una relación entre la energía total y las coordenadas de los núcleos, dicha relación define una superficie de energía potencial. Es importante localizar los puntos críticos en este tipo de superficies, ya que corresponden a estados de transición tanto a mínimos locales o al mínimo global.

El procedimiento iterativo consiste en tomar una estructura inicial, resolver la ecuación de Schrödinger para obtener la energía y gradiente correspondiente a esta estructura, posteriormente se utiliza la información del gradiente calculado para reajustar las coordenadas de los núcleos atómicos de forma que se encuentren más próximos al mínimo de energía, nuevamente se calcula la energía y el gradiente de la segunda estructura para ajustar las coordenadas a una tercera, el procedimiento es repetido hasta obtener un gradiente de energía muy cercano a cero. La velocidad del cálculo puede depender si se utilizan coordenadas cartesianas o coordenadas internas, las cuales denotan la posición de los núcleos en base a los parámetros que comparten con otros núcleos (enlace, ángulos de enlace y ángulos diedros). Es conveniente hacer uso de coordenadas internas con moléculas de no más de 30 átomos.

Capítulo 4. Resultados

El paquete computacional Gaussian 09 tiene la opción que proporciona la obtención automática de la dependencia de la energía sobre alguno de los parámetros de escaneo. De esta manera fueron obtenidos los gráficos con el método de HF/6-31G(d,p) con el paso en el ángulo de torsión C3-C2-C1'-C6' de 4°, presentados en la Figura 4.1.

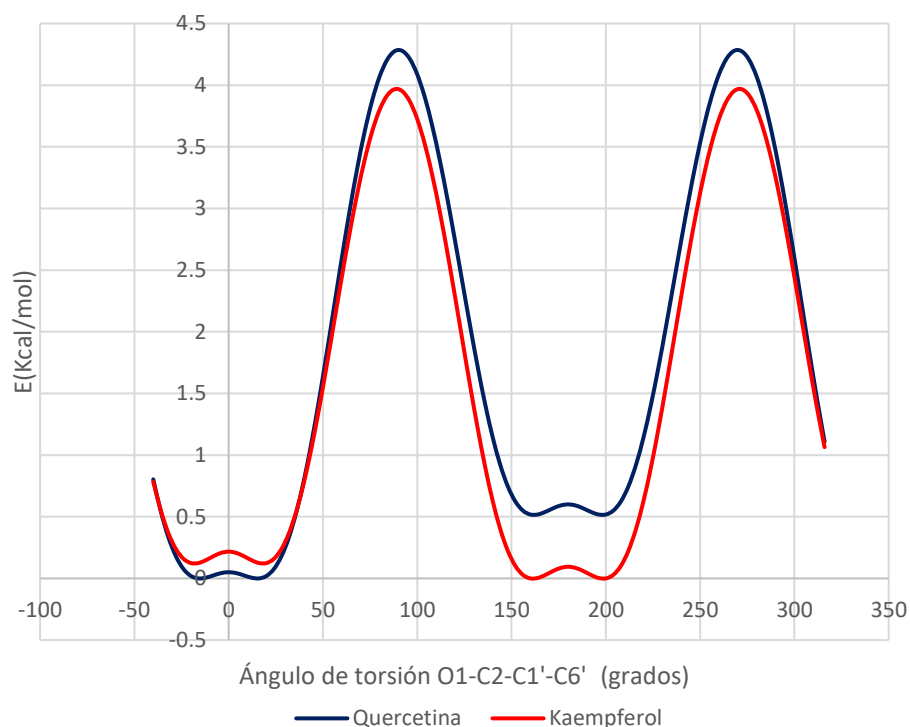


Figura 4.1 Perfiles energéticos de Quercetina y Kaempferol obtenidos con el método HF/6-31G(d,p), con el paso de 4 grados desde -40° al 320° teniendo un total de 90 pasos.

Como podemos ver, estos gráficos presentan un comportamiento suave. Dentro del paquete Gaussian 09 también hay opción de realizar cálculos utilizando diferentes campos de fuerzas de mecánica molecular, incluyendo AMBER. Sin embargo, al

utilizar la opción de escaneo con el campo AMBER se obtienen graficos con forma abrupta (Figura 4.2 y 4.3), independientemente de la dirección del escaneo.

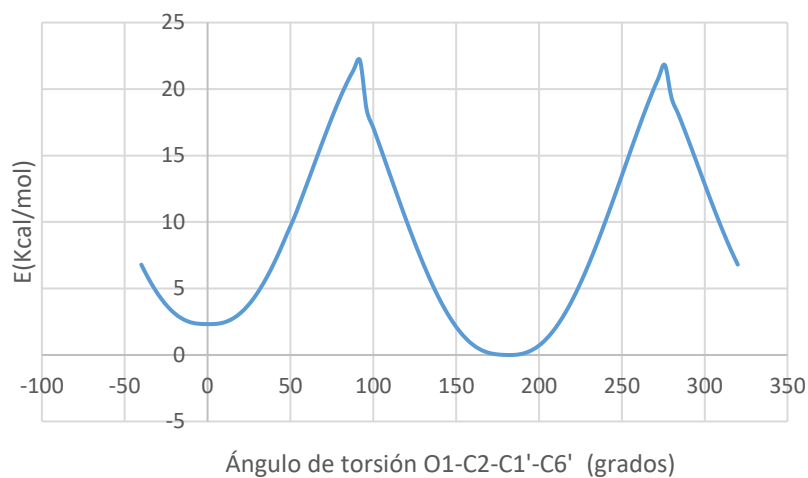


Figura 4.2 Perfil energético de Quercetina obtenido con el AMBER dentro del paquete Gaussian09, con el paso de 4 grados desde -40° al 320° teniendo un total de 90 pasos.

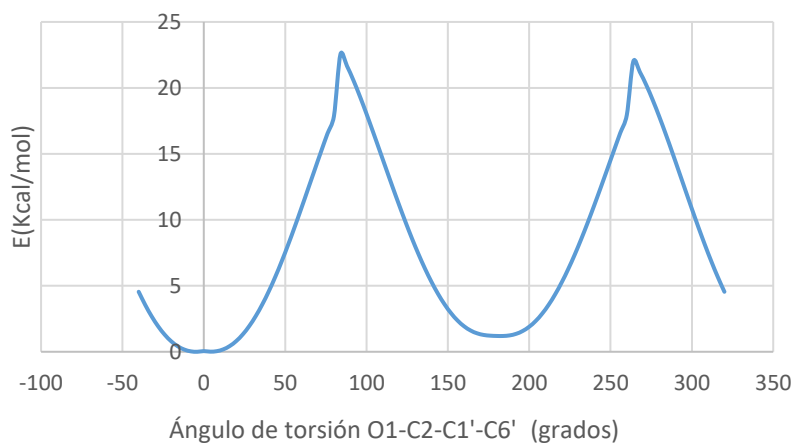


Figura 4.3 Perfil energético de Quercetina obtenido con el AMBER dentro del paquete Gaussian09, con el paso de -4 grados desde 320° al -40° teniendo un total de 90 pasos.

La disminución del paso de escaneo a 1° no ha resuelto este problema (Figura 4.4)

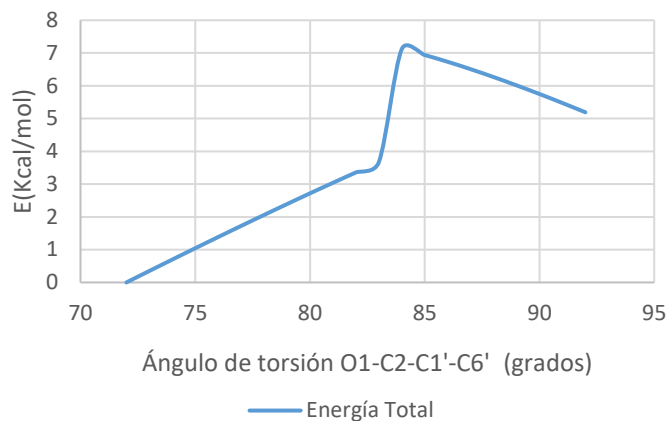


Figura 4.4 Perfil energético de Quercetina obtenido con el AMBER dentro del paquete Gaussian09, con el paso de -1 grados desde 95° al 85°.

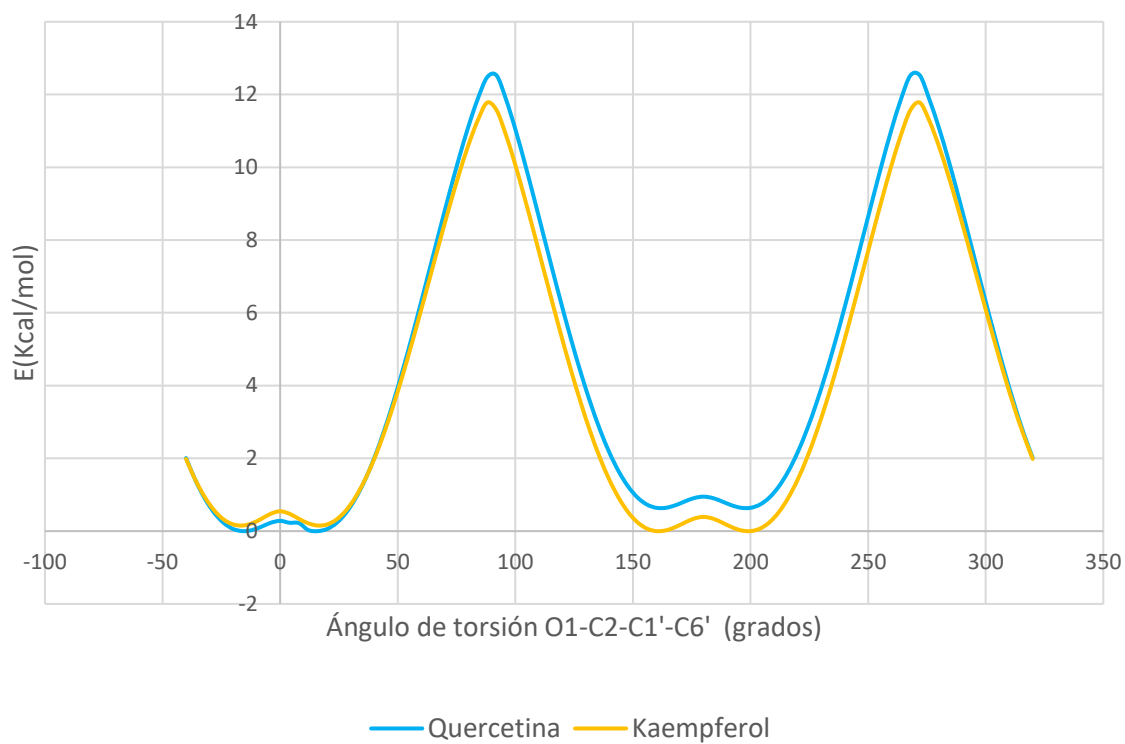


Figura 4.5 Perfiles energéticos de Quercetina y Kaempferol obtenidos con el paquete AMBER9 campo de fuerzas GAFF.

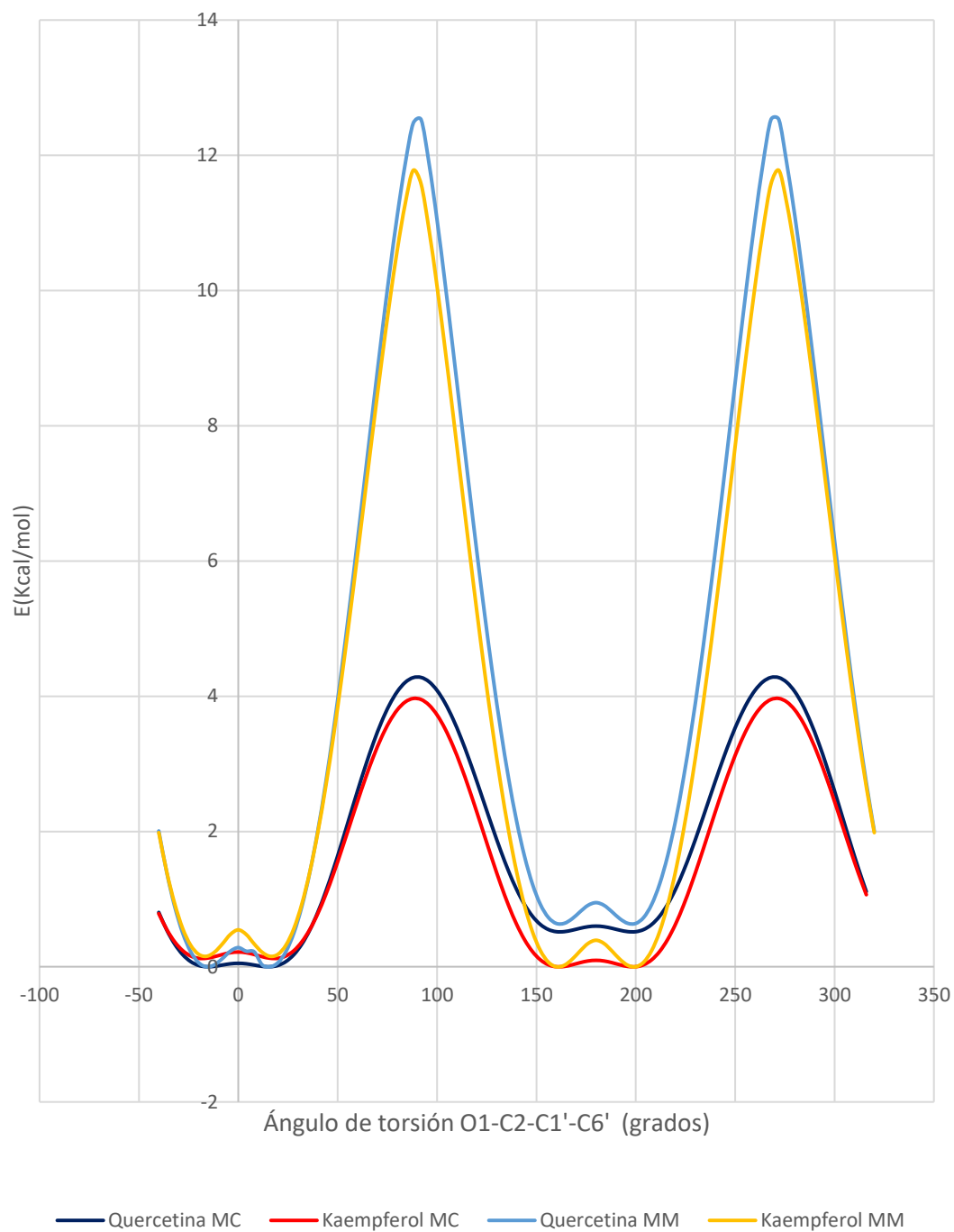


Figura 4.6 Perfiles energéticos de Quercetina y Kaempferol obtenidos con el paquete AMBER9 campo de fuerzas GAFF y Gaussian09.

Por esa razón los escaneo se han realizado paso por paso utilizando el paquete AMBER 9. En este caso los gráficos resultaron suaves (Figura 4.5). Podemos ver que los perfiles de energías obtendos con MM presentan el mismo comportamiento que en las gráficas para HF, tienen dos minimos simetricos alrededor de la posición *syn* y *anti*, En el caso de Kaemferol la energía de las posiciones *syn* y *anti* es igual, mientras que para la Quercetina se mantiene la misma preferencia para la configuración *syn*, que en el caso de HF. Sin embargo, podemos ver que las barreras entre las posiciones *syn* y *anti*, que predice el campo de fuerzas GAFF, resultan mucho más grandes (Figura 4.6).

Esta diferencia en la barrera puede ser muy importantes en las simulaciones de las interacciones de los flavonoides en cuestión, ya que según las predicciones de los métodos *ab-initio* es solo de 4 Kcal/mol y se puede atravesar facilmente. Esto hace que las dos configuraciones esten disponible durante la simulación de Dinamica Molecular o Monte Carlo, por ejemplo. Mientras que la barrera tres veces mayor: 12 Kcal/mol que predice el GAFF hace que sea dificil atravesar esta barrera, lo que llevaría a que en nuestra simulación participaría solamente una de las conformaciones, la que fue tomada inicialmente.

Para entender las raíces de esta diferencia en los perfiles de energía, se realizó el analisis por componentes de energía de los perfiles obtenidos en GAFF (Figuras 4.7 y 4.8). Se graficaron las componenetes principales de la función del potencial de GAFF: términos de van der Waals y electrostáticos, separando aparte el término para interacciones 1-4, y el término de torsión. Para mejor visualización también se hicieron los graficos trasladando los mínimos de cada curva al valor cero (Figuras 4.9 y 4.10).

Podemos observar que la componenre $1-4E_{EL}$ es la que tiene el mayor valor absoluto y hace la mayor contribución dentro de la energía total para ambos flavonoides.

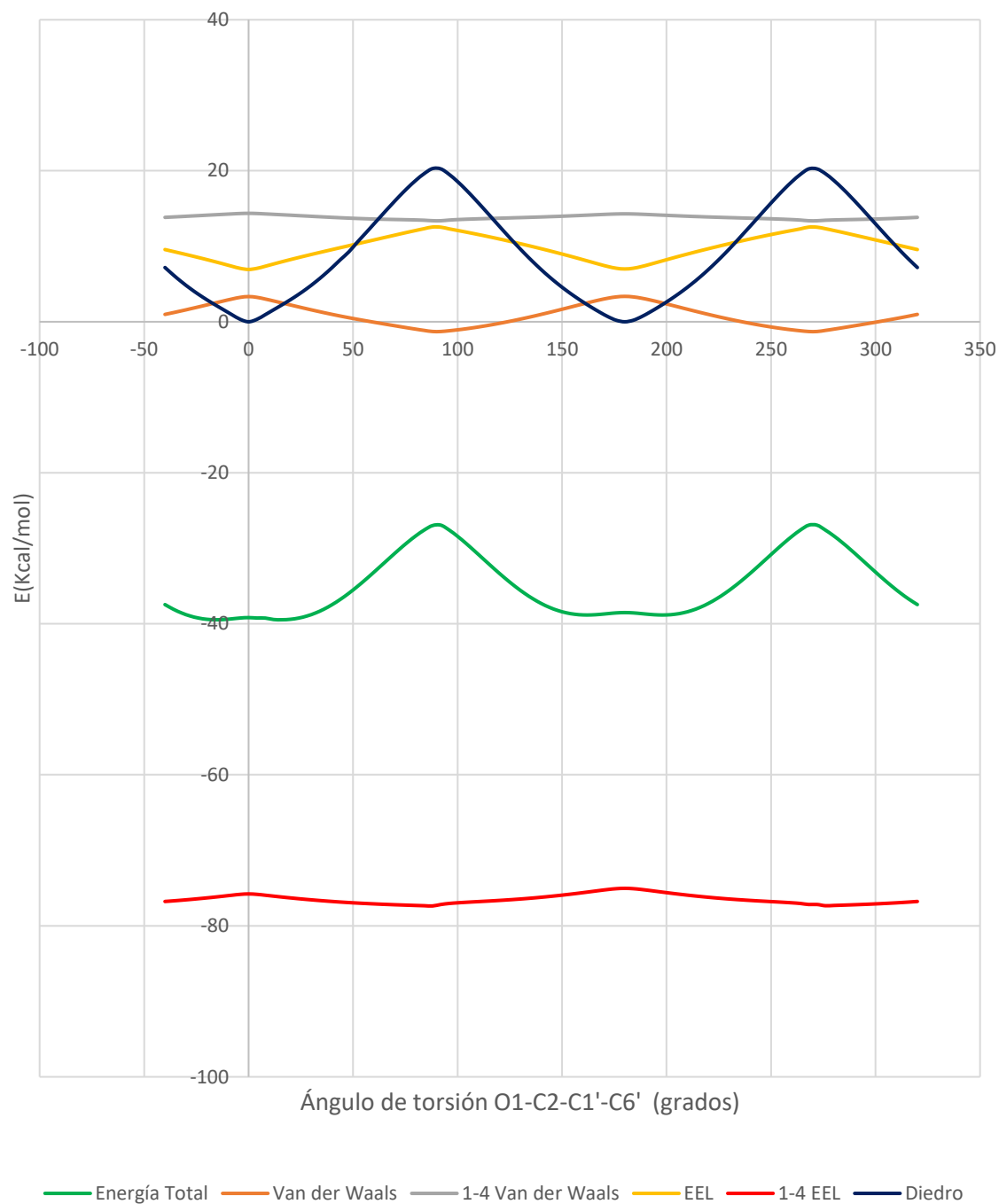


Figura 4.7 Perfil energético de Quercetina, la Energía Total se presenta de color verde y sus componentes energéticas por separado: Van der Waals, 1-4 Van der Waals, Interacción Electroestática, 1-4 Interacción electrostática y Ángulo Diedro en unidades de Kcal/mol. Obtenidas con el campo de fuerzas GAFF, se hizo con una separación de 4 grados desde -40° al 320° teniendo un total de 90 pasos.

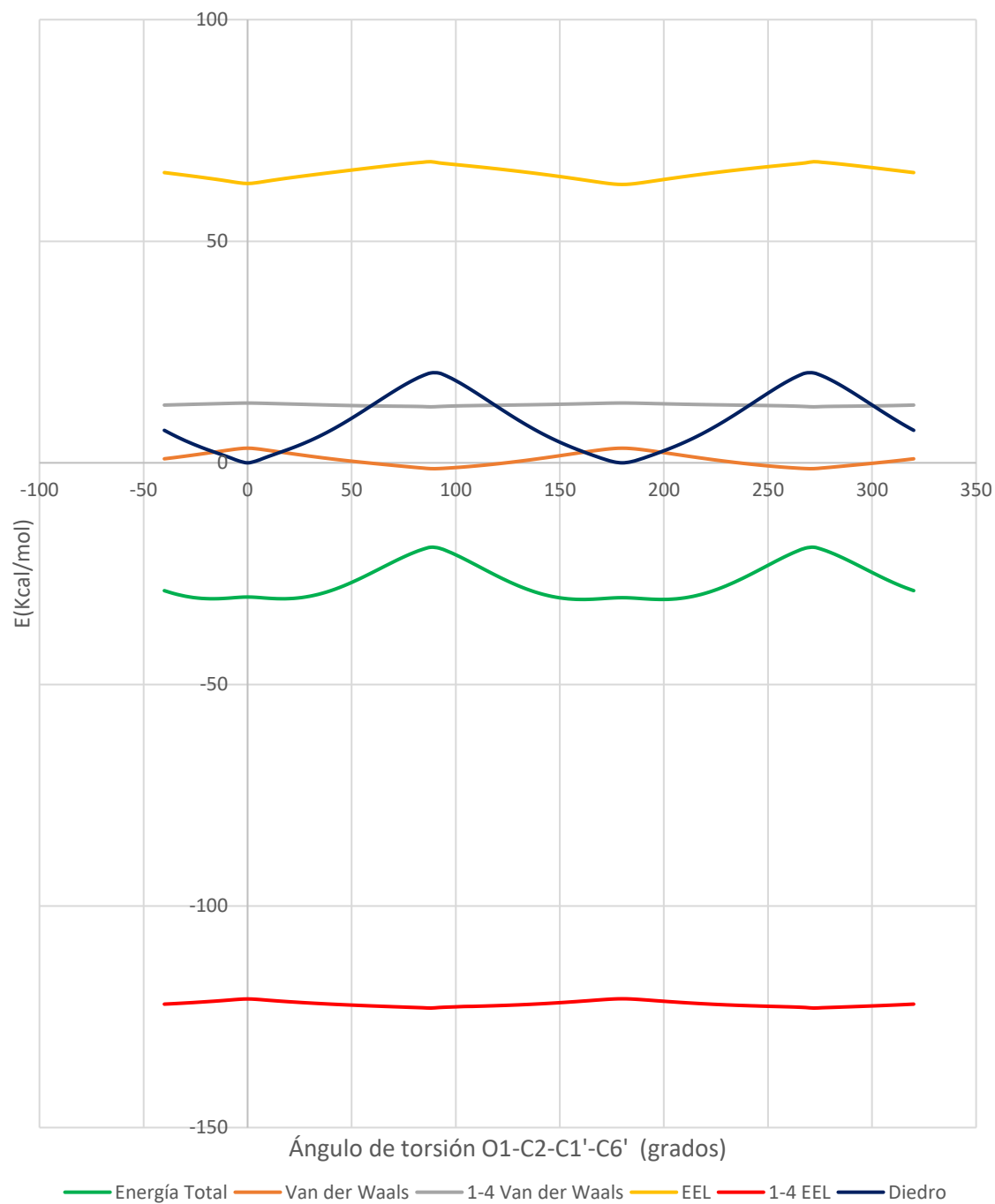
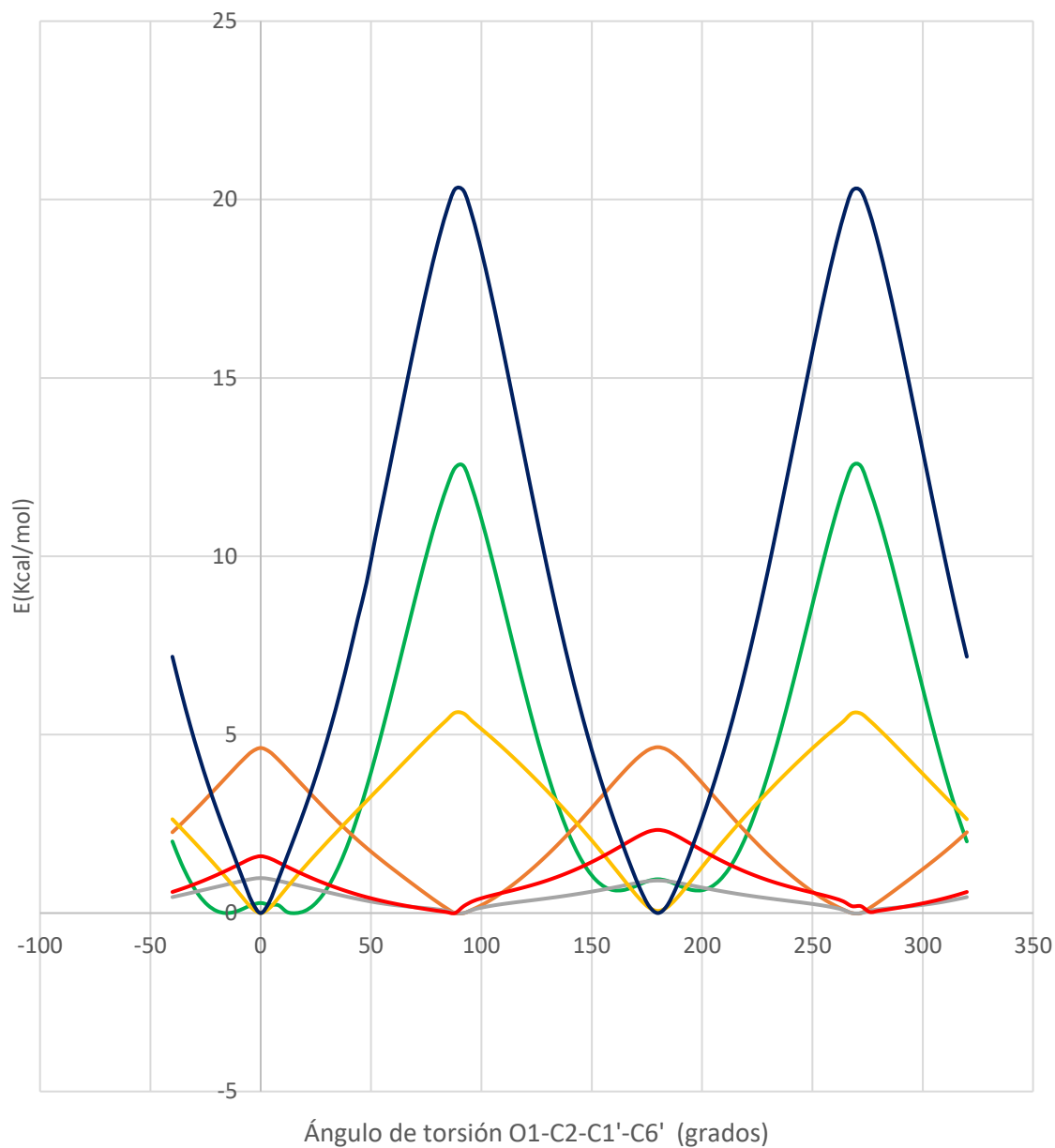
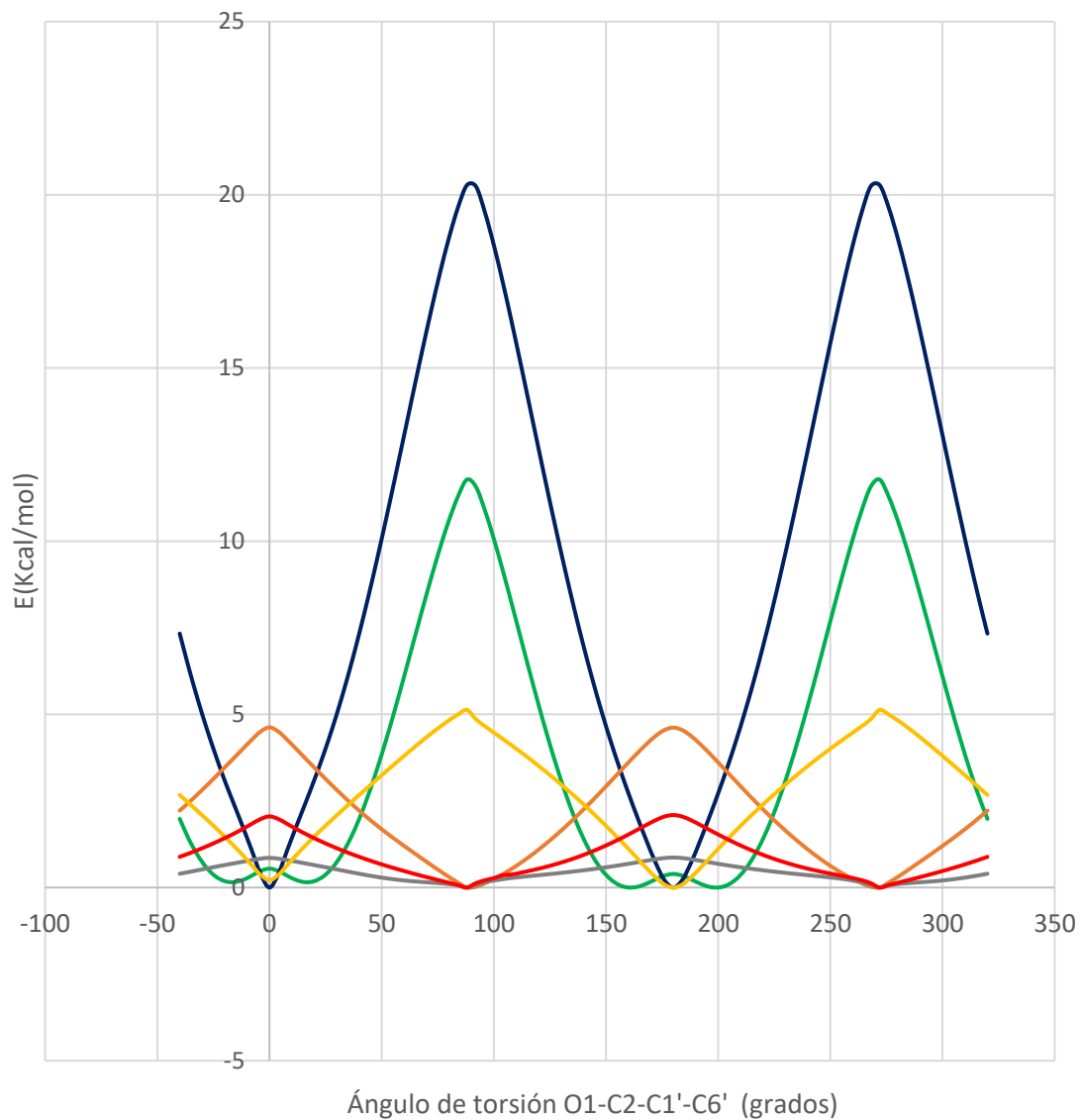


Figura 4.8 Perfil energético de Kaempferol, la Energía Total se presenta de color verde y sus componentes energéticas por separado: Van der Waals, 1-4 Van der Waals, Interacción Electrostática, 1-4 Interacción electrostática y Ángulo Diedro en unidades



— Energía Total — Van der Waals — 1-4 Van der Waals — EEL — 1-4 EEL — Diedro

Figura 4.9 Perfil energético de Quercetina, la Energía Total se presenta de color verde y sus componentes energéticas por separado: Van der Waals, 1-4 Van der Waals, Interacción Electrostática, 1-4 Interacción electrostática y Ángulo Diedro. Los valores mínimos de energía se han ajustado para hacerlos coincidir con el eje horizontal.



— Energía Total — Díedro — Van der Waals — 1-4 Van der Waals — EEL — 1-4 EEL

Figura 4.10 Perfil energético de Kaempferol, la Energía Total se presenta de color verde y sus componentes energéticas por separado: Van der Waals, 1-4 Van der Waals, Interacción Electrostática, 1-4 Interacción electrostática y Ángulo Díedro. Los valores mínimos de energía se han ajustado para hacerlos coincidir con el eje horizontal.

Los graficos de la componenete del angulo diedro son casi idénticas para las dos moléculas y presentan apoximadamente 20 Kcal/mol en su máximo. La preferencia por las configuración *syn* para la Quercetina se debe al término asimétrico 1-4 EEL (línea roja Figura 4.9).

Para lograr la disminución de la barrera en 8 Kcal/mol para la energía total de los dos flavonoides, una de las opciones que se proponen es disminuir la constante de la rotación para el anillo B en 2/3

Conclusiones

- Los perfiles de energías obtenidos con el método de MM utilizando el campo de fuerzas GAFF presentan el mismo comportamiento que en las gráficas obtenidos con el método *ab-initio* HF/6-31G(d,p). Se presentan dos minimos simetricos alrededor de la posición *syn* y *anti*.
- Para la molécula de Quercetina se mantiene la misma preferencia para la configuración *syn*, que en el caso de HF/6-31G(d,p). La componente 1-4 EEL es la responsable por este hecho.
- Las barreras entre las posiciones *syn* y *anti*, que predice el campo de fuerzas GAFF resultan en 12 Kcal/mol, mientras que los métodos ab-initio predicen éstas en 4 Kcal/mol.
- Se propone como el primer paso en resolver este problema disminuir la constante K en el término de torsión de potencial para los átomos O1-C2-C1'-C6', en 2.

Referencias

- Aguirre, L. (2011). Beneficial effects of quercetin on obesity and diabetes. *The Open Nutraceuticals Journal*, 189-198.
- Bonina, F. L. (1996). Flavonoids as potential protective agents against photo-oxidative skin damage. *Int J Pharm*, 145, 87-94.
- Calderon, M. J., Burgos, M. E., Pérez, G. C., & López, L. M. (2011). A review on the dietary flavonoid kaempferol. *Mini Rev. Med. Chem*, 11, 298-344.
- Case, D., Betz, R., S.W., B., Cerutti, D., Cheatham, T., Darden, T., . . . Luo, R. (2016). AMBER.
- Case, D., Darden, T., Cheatham, T., Simmerling, C., Wang, J., Duke, R., . . . Brozell, S. (2006). AMBER 9. University of California, San Francisco.
- Devi, K. P. (2015). Kaempferol and inflammation: From chemistry to medicine. *Pharmacological Research*, 1-10.
- Escamilla, J. C., Cuevas, M. E., & Guevara, F. J. (2009). Flavonoides y sus acciones antioxidantes. *Rev Fac Med UNAM*.
- Grigory, A. A. (2008). *Chemcraft*. Retrieved from Chemcraft: <http://www.chemcraftprog.com>
- Gunsteren, W. R. (1995). The GROMOS Software Package for Biomolecular Simulations, In: Methods and Techniques in Computational Chemistry: METECC-95. (G. C. E. Clementi, Ed.) *STEF*, 397-434.
- Harwood, M., Danielewska, N. B., Borzelleca, J., & Flamm, G. (2007). A critical review of the data related to the safety of quercetin and lack of evidence of in vivo toxicity, including lack of genotoxic/carcinogenic properties. *Food Chem Toxicol*, 45(11), 2179.

-
- Hertog, M., & Hollman, P. (1996). Potential health effects of the dietary flavonol quercetin. *Eur J Clin Nutr*, 50(2), 63-71.
- Hertog, M., Kromhout, D., Aravanis, C., Blackburn, H., & Buzina, R. (1995). Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study. *Arch Intern Med*, 155(4), 381-386.
- Hollman, P. (1996). Potential health effects of the dietary flavonol quercetin. *Eur J Clin Nutr*, 50(2), 63-71.
- Hosseini, H., Motamedshariaty, V., & Farzin, H. (2007). ANTIDEPRESSANT EFFECT OF KAEMPFEROL, A CONSTITUENT OF SAFFRON (CROCUS SATIVUS) PETAL, IN MICE AND RATS. *Pharmacologyonline*, 367-370.
- Hypercube. (1985). HyperChem Professional 7.51. *Hyperchem*. Gainesville, Florida, USA.
- Jørgensen, L. V., Cornett, C., Justesen, U., Skibsted, L. H., & Dragsted, L. O. (1998). Twoelectron. *Free Radic. Res.*, 29, 339-350.
- Kaneider, N. C., Mosheimer, B., Reinisch, N., Patsch, J. R., & Wiedermann, C. J. (2004). Inhibition of thrombin-induced signaling by resveratrol and quercetin: effects on adenosine nucleotide metabolism in endothelial cells and platelet neutrophil interactions. *Thromb Res*, 144, 185-194.
- Levine, I. N. (2011). *Química Cuántica*. España: Pearson educación.
- Martínez, F. S., González, G. J., Culebras, J. M., & Tuñón, M. J. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición Hospitalaria*, 271-278.
- Møller, C., & Plesset, M. S. (1934). Note on an Aproximation Treatment for Many-Electron Systems. *Physical Review*, 46(7), 618-622.
- Nöthlings, U., Murphy, P. M., Wilkens, R. L., Henderson, B. E., & Kolone, L. N. (2007). Flavonols and Pancreatic Cancer Risk. *American Journal of Epidemiology*, 166(8), 924-931. doi:10.1093/aje/kwm172
-

-
- Palacios, C. V. (2015). *Estudio computacional de la influencia del agua sobre las conformaciones de la molécula de Quercetina*. Puebla de Zaragoza, Puebla, México: BUAP.
- Químicas, MERCK S. A. Industrias. (2000). *Bioflavonoides: Quercetina y Rutina. Informe a Profesionales*.
- Robb, M. J., Trucks, F., Schlegel, H. B., & Scuseria, G. E. (2009). Gaussian09. *Gaussian09*.
- Roetti, C., & Clementi, E. (1974). *J. Chem Phys.* (Vol. 60).
- Ross, J., & Kasum, C. (2002). Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects. *Annu. Rev. Nutr.*, 22, 19-34.
- Rueda, N. M. (2015). *Efectos de la combinación de biomoléculas presentes en los alimentos, ácido linolénico conjugado, resveratrol y quercetina, sobre la acumulación de grasa corporal*. Vitoria-Gasteiz: Universidad del País Vasco.
- Russo, M., Spagnuolo, C., Tedesco, I., Bilotto, S., & Russo, G. L. (2012). *The flavonoid quercetin in disease prevention and therapy: Facts and fancies*.
- Sherril, C. D. (2000). An Introduction to Hartree-Fock Molecular Orbital Theory. *School of Chemistry and Biochemistry*.
- Slater, J. C. (1950). A Simplification of the Hartree-Fock Method. *Physical Review*, 385-390.
- Solís, M. T. (2015). *Estudio de las Posibles Conformaciones de los Flavonoides Quercetina y Dihidroquercetina por los Métodos de Mecánica Cuántica*. Puebla.
- Vanommeslaeghe, K., Hatcher, E., Acharya, C., Kundu, S., Zhong, S., Shim, J., . . . MacKerell Jr., A. D. (2010). CHARMM General Force Field (CGenFF): A force field for drug-like molecules compatible with the CHARMM all-atom additive biological force fields. *Journal of Computational Chemistry*, 31, 671-690.
-

-
- Wang, J. W., Caldwell, J. W., Kollman, P. A., & Case, D. A. (2004). Development and testing of a general AMBER force field. *Journal of Computational Chemistry*, 25, 1157-1174.
- Weiner, P. K., Langridge, R., Blaney, J. M., Schaefer, R., & Kollman, P. A. (1982). Electrostatic potential molecular surfaces. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 79(12), 3754-3758.
- Winkel, B. S. (2001). Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. *Plant Physiology*, 126(2), 485-493.
- Wiseman, R. L., Zhang, Y., Lee, K. P., Harding, P. H., Haynes, M. C., Price, J., . . . Ron, D. (2010). Flavonol Activation Defines an Unanticipated Ligand-Binding Site in the Kinase-RNase Domain of IRE1. *Molecular Cell* 38, núm. 2, 291-304.