



Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Facultad de Ciencias Físico Matemáticas

Estudio Computacional de la Contribución de las Subunidades del ADN a la Estructura Espacial de la Hélice Doble

Tesis presentada al

Posgrado en Ciencias (Física Aplicada)

Como requisito parcial para la obtención del grado de

Maestro en Ciencias (Física Aplicada)

Por

José Antonio Piceno Martínez

Asesorado por

Dr. Valeri Poltev

Dra. Alexandra Deriabina

Puebla Pue.

Enero 2024



Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Facultad de Ciencias Físico Matemáticas

Estudio Computacional de la Contribución de las Subunidades del ADN a la Estructura Espacial de la Hélice Doble

Tesis presentada al

Posgrado en Ciencias (Física Aplicada)

Como requisito parcial para la obtención del grado de

Maestro en Ciencias (Física Aplicada)

Por

José Antonio Piceno Martínez

Asesorado por

Dr. Valeri Poltev

Dra. Alexandra Deriabina

Puebla Pue.

Enero 2024

Título: Estudio Computacional de la Contribución de las Subunidades del ADN a la Estructura Espacial de la Hélice Doble

Estudiante: JOSÉ ANTONIO PICENO MARTÍNEZ

Dr. Eduardo González Jiménez (FCFM-BUAP)
Presidente

Dra. Dolores García Toral (FIQ-BUAP)
Secretario

Dra. Verónica Domínguez Benítez (FCFM-BUAP)
Vocal

Dr. Roberto Ramírez Sánchez (FCFM-BUAP)
Suplente

Agradecimientos

Los autores agradecen al Laboratorio Nacional de Supercómputo del Sureste de México perteneciente a la red de laboratorios nacionales CONACYT, por los recursos computacionales, el apoyo y la asistencia técnica.

Resumen

En el presente trabajo se hará un análisis conformacional de subunidades de hélice doble del ADN, en particular de nucleósidos. Se usarán dos conjuntos de métodos principales para realizar la optimización geométrica de estas estructuras: el método de Mecánica Molecular (MM) usando diferentes campos de fuerzas implementados en el software AMBER, en particular BSC1, FF99 y OL15, y utilizando también el campo de fuerzas CHARMM; y el método de Mecánica Cuántica (MC), usando la Teoría de Perturbación de Möller-Plesset (MP) y la Teoría de Densidad de Funcionales (DFT), con conjuntos base y funcionales diferentes, respectivamente.

Además, se incluirán estudios de trayectorias con Dinámica Molecular (DM) de los diferentes nucleósidos en condiciones ambientales usando el software AMBER y cálculos considerando agua como solvente implícito siguiendo el método de solvatación de Generalized Born (GBIS).

También se harán estudios estructurales de nucleósidos modificados, en particular nucleósidos de isocitosina, 5-metilcitosina, uracilo, 8-oxoguanina, 8-oxoadenina y de hipoxantina, y derivados de la citosina.

En general, la coherencia de los resultados es notable, ya que, para la mayoría de las estructuras consideradas, los diferentes métodos arrojan resultados similares. Sin embargo, se observa una discrepancia notable en el caso de la desoxicitidina, donde la clase conformacional más favorable varía según el método utilizado.

Con base en estos resultados se hicieron comparaciones entre los diferentes métodos utilizados. Aunque los resultados cualitativos con CHARMM muestran similitudes con los resultados de MC, no podemos afirmar que sea superior a AMBER en la reproducción de las preferencias energéticas de las clases conformacionales. CHARMM predice como más favorable la clase conformacional AA00 para ambas pirimidinas, mientras que con métodos de MC solo es más favorable para la desoxicitidina.

Por otro lado, los cálculos con solvente implícito arrojaron resultados similares a los realizados sin solvente, indicando que la presencia del solvente no afectó significativamente los resultados. Además, los cálculos de MP2 con un conjunto de bases más extendido también mostraron similitudes con los obtenidos usando un conjunto de bases menos extendido.

Índice de contenido

Capítulo 1. Introducción	7
1.1 La Importancia del Estudio del ADN.....	9
1.2 El Estudio del ADN en la Historia.....	10
Capítulo 2. Estructura del ADN	13
2.1 Bases Nitrogenadas.....	13
2.2 Desoxirribosa.....	16
2.3 Nucleósidos	19
2.4 Parámetros Estructurales.....	21
2.5 Niveles de Organización del ADN.....	23
2.6 Clases Conformacionales y Familias del ADN.....	26
Capítulo 3. Metodología	30
3.1 Modelo de Mecánica Molecular	31
3.1.1 Campos de Fuerzas.....	31
3.1.2 Optimización Geométrica con Mecánica Molecular.....	32
3.1.3 Simulaciones de Dinámica Molecular	34
3.1.4 Método de solvente implícito	35
3.2 Modelo de Mecánica Cuántica.....	37
3.2.1 Método ab initio.....	37
3.2.2 Teoría del Funcional de la Densidad	38
3.2.3 Optimización Geométrica con métodos de Mecánica Cuántica	39
Capítulo 4. Resultados	41
4.1 Desoxinucleósidos Naturales	42
4.2 Nucleósidos con bases modificadas.....	57
Capítulo 5. Conclusiones.....	65
Referencias	67

Índice de Figuras

Figura 2.1: Estructura de purina y pirimidina.....	13
Figura 2.2: Bases nitrogenadas del ADN	14
Figura 2.3: Emparejamiento de Watson y Crick.....	15
Figura 2.4: Estructura de la desoxirribosa.....	16
Figura 2.5: Empaquetamiento del azúcar	17
Figura 2.6: Círculo de pseudorrotación de la ribosa.	18
Figura 2.7: Estructura de desoxinucleósido y desoxinucleótido.....	19
Figura 2.8: Cadena polinucleotídica del ADN.....	20
Figura 2.9: Orientaciones anti (izquierda) y syn (derecha) ilustradas para purinas	21
Figura 2.10: Designación de los ángulos de torsión para un desoxidinucléotido mono-fosfato (dDMP)	22
Figura 2.11: Parámetros sobre la disposición de las bases	23
Figura 2.12: Doble hélice del ADN.....	24
Figura 2.13: Niveles de organización del ADN	25
Figura 2.14: Familias A-ADN, B-ADN y Z-ADN	26
Figura 4.1: Designación de los ángulos de torsión para dDMP y para desoxinucleósidos	41
Figura 4.2 Estructuras del nucleósido desoxiguanosina optimizadas geométricamente con diferentes métodos (BSC1, CHARMM, PBE y MP2)	45
Figura 4.3: Ángulos de torsión en trayectoria de dinámica molecular tomando como estructura inicial el nucleósido desoxitimidina en conformación BB00, con temperatura de 298K y con agua como solvente implícito.....	48
Figura 4.4: Ángulos de torsión en trayectoria de dinámica molecular tomando como estructura inicial el nucleósido desoxitimidina en conformación BB00, con temperatura de 298K y sin solvente.....	48
Figura 4.5: Ángulos de torsión en trayectoria de dinámica molecular tomando como estructura inicial el nucleósido desoxitimidina en conformación AA00, con temperatura de 298K y sin solvente.....	49
Figura 4.6: Ángulos de torsión en trayectoria de dinámica molecular tomando como estructura inicial el nucleósido desoxitimidina en conformación AA00, con temperatura de 298K y con agua como solvente implícito.....	50

Figura 4.7: Resultados para desoxicitidina en las clases conformacionales BB00 (izquierda) y AA00 (derecha), obtenidos de optimizaciones considerando agua como solvente implícito en AMBER/BSC1 (arriba) y CHARMM (abajo)	52
Figura 4.8: Resultados para desoxicitidina en las clases conformacionales BB00 (izquierda) y AA00 (derecha), obtenidos usando el software ADF con los funcionales PW91 (arriba) y PBE-D (abajo). 53	53
Figura 4.9: Ángulos de torsión en trayectoria de dinámica molecular tomando como estructura inicial el nucleósido desoxicitidina en conformación BB00, con temperatura de 298K y sin solvente.	54
Figura 4.10: Ángulos de torsión en trayectoria de dinámica molecular tomando como estructura inicial el nucleósido desoxicitidina en conformación BB00, con temperatura de 298K y con agua como solvente implícito.	54
Figura 4.11: Ángulos de torsión en trayectoria de dinámica molecular tomando como estructura inicial el nucleósido desoxicitidina en conformación BB00, con temperatura de 298K y sin solvente.	55
Figura 4.12: Ángulos de torsión en trayectoria de dinámica molecular tomando como estructura inicial el nucleósido desoxicitidina en conformación BB00, con temperatura de 298K y con agua como solvente implícito.	56
Figura 4.13: Nucleósidos modificados considerados para pirimidinas: Desoxiuridina (dU), nucleósido de 5-metil citosina, nucleósido de 2-oxo pirimidina, nucleósido de 2-amino 4-oxo pirimidina, nucleósido de 4-oxo pirimidina y nucleósido de 2-oxo 5-amino pirimidina. De izquierda a derecha y de arriba a abajo. Todas en conformación BB00 optimizadas con MP2.	58
Figura 4.14: Desoxiguanosina y nucleósidos modificados considerados para purinas: 8-oxoguanosina, 8-oxoadenosina e inosina (nucleósido de hipoxantina). De izquierda a derecha y de arriba a abajo. Todas en conformación BB00 optimizadas con PBE.	62

Índice de Tablas

Tabla 2.1: Ángulos de torsión característicos de algunas clases conformacionales A y B del ADN. Los ángulos de torsión están expresados en [°].	28
Tabla 4.1: Resultados obtenidos para desoxiadenosina (dA) con métodos de MM y MC.	43
Tabla 4.2: Resultados obtenidos para desoxiguanosina (dG) con métodos de MM y MC.	44
Tabla 4.3: Resultados obtenidos para desoxitimidina (dT) con métodos de MM y MC.	46
Tabla 4.4: Resultados obtenidos para desoxicitidina (dC) con métodos de MM y MC.	51
Tabla 4.5: Resultados obtenidos para desoxiuridina (dU) con métodos de MM y MC.	57
Tabla 4.6: Resultados obtenidos para el desoxinucleósido de 5-metil citosina con métodos de MM y MC.	59
Tabla 4.7: Resultados obtenidos para el desoxinucleósido de 2-oxo pirimidina con métodos de MC.	59
Tabla 4.8: Resultados obtenidos para el desoxinucleósido de 2-amino 4-oxo pirimidina (isocitosina) con métodos de MC.	60
Tabla 4.9: Resultados obtenidos para el desoxinucleósido de 4-oxo pirimidina con métodos de MC.	60
Tabla 4.10: Resultados obtenidos para el desoxinucleósido de 4-oxo pirimidina con métodos de MC.	61
Tabla 4.11: Resultados obtenidos para el desoxinucleósido de 8-oxo guanina (8-oxo guanosina) con métodos de MM y MC.	62
Tabla 4.12: Resultados obtenidos para el desoxinucleósido de 8-oxo adenina (8-oxoadenosina) con métodos de MC.	63
Tabla 4.13: Resultados obtenidos para el desoxinucleósido de 8-oxo adenina (8-oxoadenosina) con métodos de MC.	64

Objetivos

Objetivo General

Obtención de mínimos locales de desoxinucleósidos naturales y con modificaciones en las bases nitrogenadas por medio de Mecánica Molecular y Mecánica Cuántica, y su comparación para diferentes clases conformacionales del ADN.

Objetivos Particulares

1. Optimización geométrica de los desoxinucleósidos de las bases naturales de ADN con diferentes campos de fuerzas de Mecánica Molecular, utilizando los softwares AMBER y CHARMM.
2. Optimización geométrica de los desoxinucleósidos de las bases naturales de ADN con métodos de Mecánica Cuántica, MP2 y DFT con diferentes funcionales.
3. Optimización geométrica de los desoxinucleósidos con bases modificadas con diferentes campos de fuerzas de Mecánica Molecular y con métodos de Mecánica Cuántica, MP2 y DFT con diferentes funcionales.
4. Comparación de las características geométricas de los mínimos locales obtenidos con diferentes métodos tanto para las bases naturales como para las modificadas, con los parámetros conformacionales de diferentes clases de fragmentos de ADN.

Capítulo 1. Introducción

El ácido desoxirribonucleico (ADN), es una molécula esencial que se encuentra en todos los seres vivos y lleva la información genética que determina las características y funciones de un organismo. Su principal función es llevar la información genética que determina la secuencia de aminoácidos en las proteínas y, por lo tanto, controla la estructura y función de un organismo. Esta información se almacena en su secuencia de bases y se transmite de generación en generación. Antes de que una célula se divida, el ADN debe replicarse para asegurar que cada célula hija tenga una copia idéntica de la información genética.

Además de guardar la receta de cada una de las proteínas, hay fragmentos de ADN que no corresponden a ninguna, llamado ADN no codificante, o estructural. Este ADN tiene otras funciones, como la forma en la que esta molécula se empaqueta y se enrolla sobre sí misma. Esta flexibilidad da pie a las características conformacionales de los fragmentos de ADN que se estudian en el presente trabajo.

El hallazgo de la estructura de doble hélice del ADN en 1953 [1], realizado por los científicos británicos James Watson y Francis Crick, marcó un hito revolucionario en la historia de la ciencia. Este descubrimiento dio lugar a una serie de investigaciones en el campo de la biofísica molecular, las cuales son cruciales en diversas disciplinas, como la genética, la medicina, la biotecnología, entre otras. Estas investigaciones han tenido un impacto profundo en nuestra comprensión de la vida y en nuestra capacidad para manipularla. A pesar de ello, persisten preguntas sin respuesta relacionadas con los principios fisicoquímicos que rigen la formación de la estructura tridimensional de las diferentes secuencias de nucleótidos y del papel de las interacciones entre los componentes de los biopolímeros. Por lo tanto, se sigue investigando de manera intensiva los ácidos nucleicos (AN) mediante diversos métodos.

En los años 50's del siglo pasado, los primeros estudios de la doble hélice del ADN se llevaron a cabo con modelos hechos a mano, pero con la invención de la computadora, se hizo posible el uso de herramientas más avanzadas, como los modelos mecánico-cuánticos y modelos mecánico-moleculares. Un ejemplo de estas herramientas computacionales son los campos de fuerzas parametrizados, como AMBER o CHARMM, que se ajustan a datos experimentales y principios de mecánica cuántica.

Investigaciones recientes han revelado, a través de métodos computacionales, que el fragmento más pequeño de la hélice doble puede asumir conformaciones diferentes a las tradicionales de Watson y Crick [2]. En consecuencia, se busca comprender la contribución de las subunidades a la variabilidad conformacional de la estructura tridimensional de la doble hélice del ADN.

Es esencial adquirir conocimientos sobre los principios físicos que rigen la construcción de los ácidos nucleicos, la influencia de las secuencias y las preferencias conformacionales en la estructura del ADN, ya que esto proporciona una comprensión más profunda de los mecanismos moleculares de los procesos relacionados con el ADN. Este conocimiento es especialmente relevante en el caso de secuencias que contienen nucleósidos con modificaciones en sus bases nitrogenadas, ya que permite entender cómo estas modificaciones afectan la estructura y los procesos del ADN. Por lo tanto, en este estudio, se analizarán las subunidades de fragmentos del ADN, la desoxirribosa y los nucleósidos (tanto naturales como modificados), y se investigarán sus dependencias y diferencias, así como sus características comunes. Para llevar a cabo esta investigación, se emplearán diversos campos de fuerzas [3] implementados en paquetes computacionales como AMBER [4] y CHARMM [5], así como modelos mecánico-cuánticos, como la Teoría del Funcional de la Densidad (DFT) [6], y la Teoría de Perturbación de Möller-Plesset [7] de segundo orden (MP2).

Los cambios en los ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato del ADN dan pie a diferentes clases conformacionales del ADN [8]. Para entender el rol de las numerosas variaciones conformacionales en las funciones del ADN, es importante evaluar la contribución de sus componentes individuales a la formación tridimensional de la estructura [9].

1.1 La Importancia del Estudio del ADN

Como veremos en la siguiente sección, la historia del ADN es una historia de descubrimientos científicos continuos que han transformado nuestra comprensión de la herencia genética y la vida misma. Los avances en la genómica y la biotecnología siguen desempeñando un papel crucial en la ciencia y la medicina moderna.

Por muchos años, los científicos debatieron qué molécula portaba las instrucciones biológicas para la vida. La mayoría pensaba que el ADN era una molécula demasiado sencilla para desempeñar un papel tan importante, se argumentaba que era más probable que las proteínas llevaran a cabo esta función vital debido a su mayor complejidad y más amplia variedad de formas. Su importancia se aclaró a mediados del siglo pasado, y hasta ahora seguimos descubriendo y estudiando sus rasgos más interesantes.

El ADN es la molécula biológica más importante, siendo la base de la herencia genética, y su estudio nos permite entender cómo se transmiten las características de una generación a la siguiente. El ADN se encuentra en el núcleo de la célula, como la célula es muy pequeña y hay muchas moléculas de ADN por célula, cada una de estas moléculas de ADN debe estar empaquetada de forma muy compacta y precisa. A esta forma de empaquetamiento se le llama cromosoma. Desde una perspectiva funcional, se organiza en genes, que son segmentos de ADN que dictan características fisiológicas específicas, estas características se generan a través de una molécula llamada ARN (ácido ribonucleico). El ADN actúa como una plantilla para la síntesis de ARN, y el ARN, a su vez, funciona como intermediario entre el ADN y las proteínas. En el transcurso de replicación del ADN, se produce su desenrollamiento, permitiendo así su duplicación. En distintas fases del ciclo celular, algunas porciones se desenrollan igualmente para su utilización en la síntesis de proteínas y para otros procedimientos biológicos. No obstante, durante la división celular, el ADN adopta su configuración compacta de cromosoma, haciendo posible su transferencia a nuevas células.

Los nucleótidos por su parte desempeñan diversas funciones esenciales en los seres vivos. Participan en las interacciones con proteínas a lo largo de todo el proceso metabólico. Incluso si estos componentes no formaran parte del ADN, seguirían siendo moléculas de gran relevancia en el campo de la biología.

A su vez, métodos como la mecánica molecular han evolucionado a lo largo de los siglos, desde sus fundamentos en la teoría cinética y la termodinámica hasta su

aplicación en la simulación y el diseño de sistemas moleculares y materiales en la actualidad. Y han tenido un impacto significativo en la ciencia y tecnología modernas.

1.2 El Estudio del ADN en la Historia

La Historia del ADN es una narrativa fascinante que abarca siglos de descubrimientos científicos, podemos resumirla en los siguientes momentos clave, desde su descubrimiento hasta la actualidad.

En el siglo XIX, se comenzaron a estudiar los componentes químicos de los núcleos celulares. Friederich Miescher, un químico suizo, aisló por primera vez una sustancia que llamó *nucleína* (hoy sabemos que es ADN) en 1869 [10]. Mas tarde, se descubrió que los nucleótidos son las unidades básicas del ADN.

En este siglo también se desarrolló la teoría atómica, y se propusieron modelos de átomos y moléculas que permitieron una mejor comprensión de la química y la física. A su vez, Dmitri Mendeléyev formuló la tabla periódica de los elementos, que ayudó a organizar la información sobre los átomos y las moléculas [11].

Uno de los momentos más icónicos en la historia del ADN fue el descubrimiento de su estructura de doble hélice en 1953 [2] por los científicos británicos James Watson y Francis Crick. Su modelo proporcionó una explicación de cómo las bases nitrogenadas se emparejan entre sí y cómo se almacena la información genética. Este descubrimiento fue publicado en la revista *Nature* y es considerado uno de los avances científicos más significativos del siglo XX. En aquel periodo, Linus Pauling, conocido por su descubrimiento de la estructura secundaria de las proteínas [12], junto con otros científicos, se encontraban inmersos en la búsqueda del modelo correcto. En lugar de llevar a cabo nuevos experimentos en el laboratorio, Watson y Crick se centraron en la recopilación y el análisis de la información, combinándolos de manera innovadora y esclarecedora. Algunas de las pistas más cruciales para su trabajo provenían de las contribuciones de Rosalind Franklin [13], una química que realizaba investigaciones en el mismo laboratorio del físico Maurice Wilkins, y de los descubrimientos de Erwin Chargaff [14], un bioquímico austriaco.

El siglo XX vio un progreso significativo en la mecánica cuántica, y esta se convirtió en una base fundamental para la mecánica molecular (MM), con el advenimiento de las computadoras, se comenzaron a realizar cálculos y simulaciones numéricas para estudiar sistemas moleculares [15]. Pioneros como John Pople

contribuyeron al desarrollo de métodos de cálculo cuántico que permitieron la simulación de moléculas y sólidos.

En la década de 1960, se descubrió el código genético, el conjunto de reglas que especifica cómo se traduce la secuencia de nucleótidos del ADN en proteínas. Y durante las décadas siguientes se desarrollaron tecnologías para secuenciar el ADN, lo que permitió a los científicos leer la secuencia de nucleótidos. Esto llevó al nacimiento de la biotecnología y la ingeniería genética, que junto con el *Proyecto del Genoma Humano* (completado en 2003), han revolucionado nuestra capacidad para estudiar y modificar el ADN, teniendo grandes avances en medicina, biotecnología, agricultura y conservación de la biodiversidad.

El primer artículo que abordó un análisis computacional de las configuraciones de moléculas orgánicas, específicamente centrado en hidrocarburos saturados, fue publicado por Hendrickson en 1961 [16]. Durante esa década y la siguiente, varios grupos de investigadores llevaron a cabo numerosos cálculos computacionales, destacándose el trabajo de Hendrickson et al. [17, 18], así como el de Allinger et al. [19]. En 1973 se hizo una extensión del método de MM para abordar hidrocarburos de mayor complejidad [20].

El asesor de esta investigación, V. Poltev, presentó en la década de 1960 [15] el primer esquema de átomo-átomo junto con parámetros numéricos para calcular las interacciones entre las bases de ácidos nucleicos. Este enfoque se basaba en tres elementos clave: estimaciones cuantitativas de subunidades de ácidos nucleicos, la aproximación monopolar para las interacciones electrostáticas entre las bases y un método de átomo-átomo para calcular las interacciones de van der Waals en moléculas cristalinas. En ese momento, no existía un esquema de MM que se ajustara a las consideraciones cuantitativas de interacciones y estructuras de ácidos nucleicos.

En cuanto a las herramientas computacionales utilizadas, el software y campos de fuerzas AMBER se destacan como los más populares. Su primera versión surgió en 1981 [21], y tres años más tarde se publicó la primera especificación detallada de los parámetros del campo de fuerzas [22]. Estos parámetros fueron ajustados utilizando datos experimentales y cálculos de mecánica cuántica. A raíz de estas publicaciones, se lanzaron múltiples versiones posteriores [15]. En 1995, se publicó la segunda generación del campo de fuerzas AMBER [23], donde se mejoran significativamente las interacciones energéticas entre proteínas, ácidos nucleicos y diversas moléculas orgánicas. Y a partir de esta versión, se han desarrollado conjuntos adicionales de parámetros. En la actualidad, el software AMBER y sus campos de fuerza son

herramientas ampliamente empleadas para simular diversos sistemas biológicos, y numerosos investigadores continúan trabajando en la mejora de los parámetros para aplicaciones en sistemas más específicos.

Por otro lado, gracias al desarrollo de la mecánica cuántica en el siglo pasado, se establecieron los fundamentos de la Teoría del Funcional de Densidad (DFT por sus siglas en inglés), gracias a la publicación de los teoremas fundamentales de Kohn y Hohenberg [24]. El primer teorema establece que la densidad electrónica contiene toda la información necesaria para calcular propiedades observables de un sistema cuántico. El segundo mostró que existe un funcional de energía única de la densidad que minimiza la energía total del sistema. En 1965, Kohn y Lu Jeu Sham introdujeron un formalismo matemático que permitió la aplicación práctica de la DFT [25], su enfoque implicaba la introducción de orbitales de Kohn-Sham, que son equivalentes ficticios a los electrones reales y permiten describir la densidad electrónica en términos de estas funciones. Mediante más avances en las décadas posteriores, la DFT se popularizó como una herramienta fundamental en la investigación en química cuántica, utilizado para calcular propiedades de moléculas, sólidos y superficies [26]. La DFT sigue siendo una teoría activa y en constante desarrollo, con numerosos funcionales de densidad para abordar diversas situaciones y propiedades.

A su vez, con los avances en métodos matemáticos se lograron aplicar enfoques teóricos para describir la estructura electrónica de átomos y moléculas, como la Teoría de Perturbación de Möller-Plesset, desarrollada en la década de 1940 [7], cuyo enfoque se basó en la expansión de la función de onda electrónica en series perturbativas. En décadas posteriores se desarrolló su segundo orden (MP2) [27], centrándose en la corrección de segundo orden a la energía electrónica, convirtiéndose hasta la fecha en una técnica ampliamente utilizada para mejorar la precisión de los cálculos de estructura electrónica, aplicándose a una variedad de sistemas moleculares y sólidos [28].

Hoy en día, la mecánica molecular y la simulación computacional con diferentes métodos son herramientas esenciales en la investigación científica y la industria. Se utilizan para estudiar una amplia gama de sistemas, desde moléculas y proteínas hasta materiales y nanotecnología. La mecánica molecular también se aplica en la química computacional y la bioinformática, lo que ha llevado a avances significativos en campos como la química medicinal y la nanotecnología.

Capítulo 2. Estructura del ADN

El ADN consta de dos hélices compuestas por cadenas de nucleótidos complementarias, la unidad de la que se componen dichas hélices es el desoxinucleótido monofosfato complementario (cdDMP) [29]. Cada cadena del ADN es un polímero, cuyos bloques de construcción están formados por una base nitrogenada, una molécula de azúcar (desoxirribosa para el ADN) y una molécula de ácido fosfórico, que se conoce como nucleótido (B+S+P). Básicamente, un nucleótido se compone de un nucleósido (B+S) y un grupo fosfato (P). Y a la cadena formada por el azúcar y los grupos fosfato se conoce como esqueleto azúcar-fosfato (SPB por sus siglas en inglés).

En este capítulo, se detallará la estructura del ADN, comenzando por las características de las bases nitrogenadas, su relación con el azúcar y el empaquetamiento del último. Luego se explorarán los nucleósidos y nucleótidos que constituyen las cadenas del ADN, y finalmente se abordará la estructura tridimensional de la doble hélice del ADN.

2.1 Bases Nitrogenadas

Las bases nitrogenadas son componentes clave de la estructura del ADN. Estas bases son moléculas orgánicas que contienen átomos de nitrógeno y carbono, y son cruciales para la codificación y transmisión de información genética. Hay cuatro bases nitrogenadas en el ADN, que se dividen en dos grupos: **pirimidinas** (tienen un anillo en su estructura molecular) y **purinas** (tienen dos anillos), Figura (2.1).

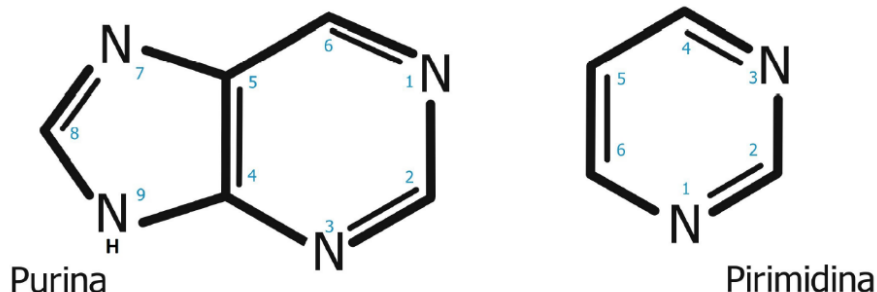


Figura 2.1: Estructura de purina y pirimidina.

Las pirimidinas tienen 1 anillo formado de carbonos y nitrógenos, mientras que las purinas tienen 2. En la figura se muestra la convención para la numeración de las posiciones de cada átomo.

Las bases que forman la estructura del ADN son:

- **Adenina (A):** [6-amino-pur] Es una purina (compuesta de dos anillos), con un grupo amino ($-NH_2$) en la posición 6. Con la desoxirribosa forma el nucleósido *desoxiadenosina (dAdo)*.
- **Guanina (G):** [2-amino-6-oxo-pur] Es otra purina, contiene un grupo amino ($-NH_2$) en la posición 2 y un grupo oxigenado ($-O$) en la posición 6. Forma el nucleósido *desoxiguanosina (dGuo)*.
- **Citosina (C):** [2-oxo-4-amino-pyr] Es una pirimidina (consta de un solo anillo de 6 átomos), con un grupo amino en la posición 4 y un grupo cetónico en 2. Forma el nucleósido *desoxicitidina (dCyd)*.
- **Timina (T):** [2,4-oxo-5-metil-pyr] Es la otra pirimidina, contiene oxígeno en las posiciones 2 y 4, y un grupo metil ($-CH_3$) en la posición 5. Forma el nucleósido *desoxitimidina (dThd)*. En el ARN el Uracilo toma el lugar de la Timina.

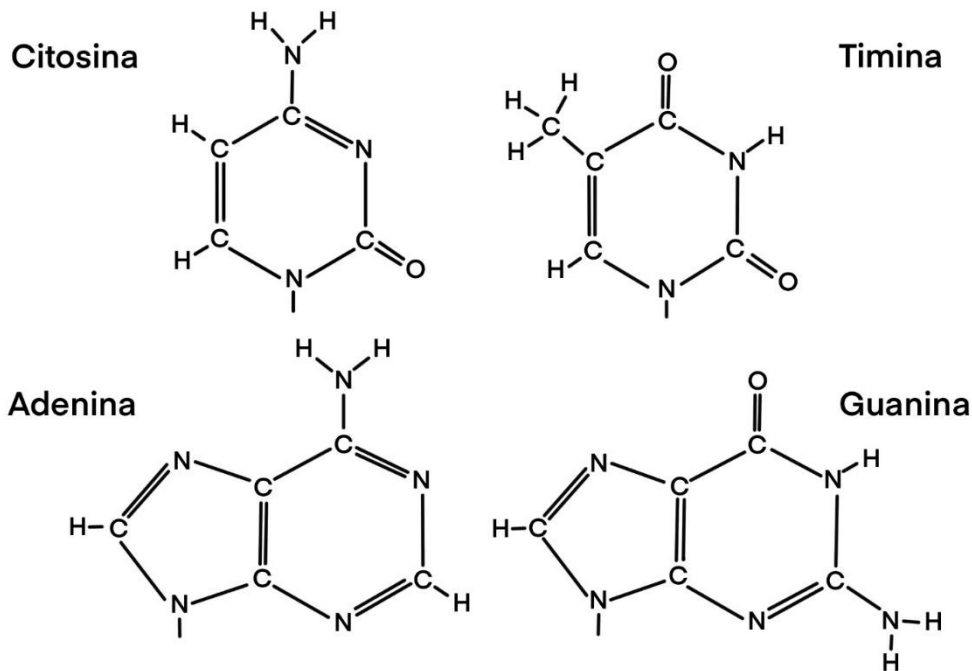


Figura 2.2: Bases nitrogenadas del ADN.

Se describe la estructura de las bases nitrogenadas de citosina (C), timina (T), adenina (A) y guanina(G).

Todos los átomos de las bases están sobre un mismo plano (esto clasifica a estas moléculas como aromáticas), esta característica es importante en la organización de las bases sobre las hélices, pues les permite apilarse uniformemente. Las bases nitrogenadas se unen al azúcar formando nucleósidos mediante un enlace N-glucosídico que se da entre los átomos N1 (pirimidinas) y N9 (purinas), y un carbono del azúcar. Entre los planos de la base y el anillo de azúcar se pueden dar diferentes orientaciones, existiendo dos conformaciones predominantes: **anti** y **syn** (ver sección 2.3).

La estructura de estas bases nitrogenadas es crucial para la complementariedad de bases en la doble hélice del ADN. La adenina (A) siempre se empareja con la timina (T) mediante dos enlaces de hidrógeno, y la guanina (G) se empareja con la citosina (C) mediante tres enlaces de hidrógeno. A esto se le conoce como *emparejamiento de Watson y Crick* (Figura 2.3). Esta complementariedad de bases es fundamental para la estabilidad de la estructura de la doble hélice del ADN y es esencial para la replicación y la transcripción del ADN, así como para la transferencia de información genética.

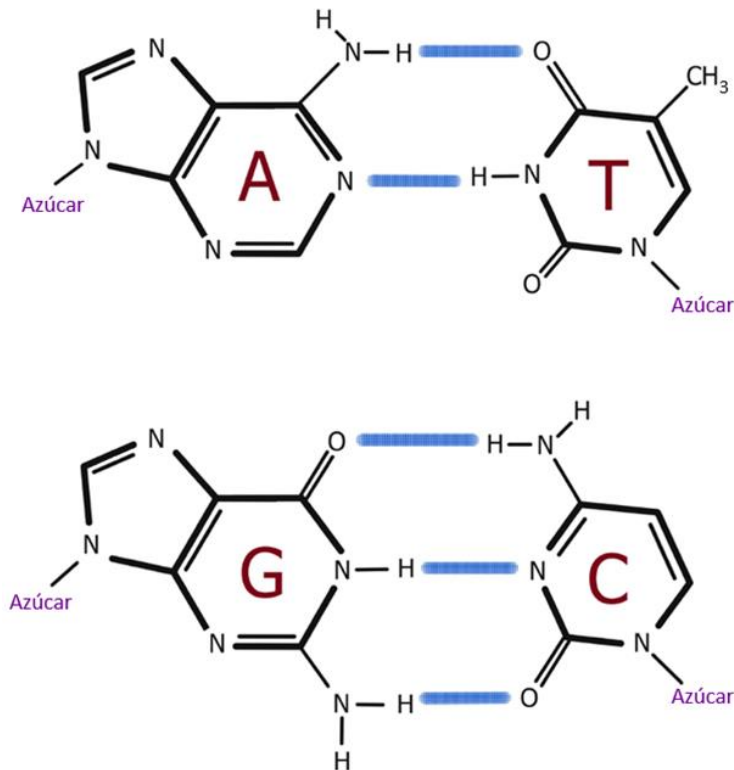


Figura 2.3: *Emparejamiento de Watson y Crick.*

El par A-T tiene dos enlaces de hidrógeno: N1-H3 y H6-O4.

El par G-C tiene tres enlaces de hidrógeno: O6-H4, H1-N3 y H2-O2.

Existen reglas que describen las proporciones relativas de las bases nitrogenadas en el ADN y son esenciales para comprender la complementariedad de bases en la doble hélice, conocidas como **reglas de Chargaff** [14], proporcionadas por el bioquímico Erwin Chargaff en la década de 1950:

- La proporción de A es equivalente a la de T en una molécula de ADN, y la proporción de G es equivalente a la de C.
- La cantidad de bases varía entre especies, pero no entre individuos de la misma especie.
- A, T, C y G no se encuentran en cantidades iguales.

2.2 Desoxirribosa

La desoxirribosa es un azúcar pentosa que forma parte de la estructura del ADN. Es una variante de la ribosa (que se encuentra en el ARN). Es un componente esencial en la estructura del ADN, forma parte del esqueleto azúcar-fosfato que crea la estructura de la doble hélice. Las bases nitrogenadas se unen a la desoxirribosa para crear los nucleósidos que forman la hélice del ADN. Durante la replicación del ADN, la desoxirribosa en una cadena actúa como una plantilla para sintetizar una nueva cadena de ADN complementaria.

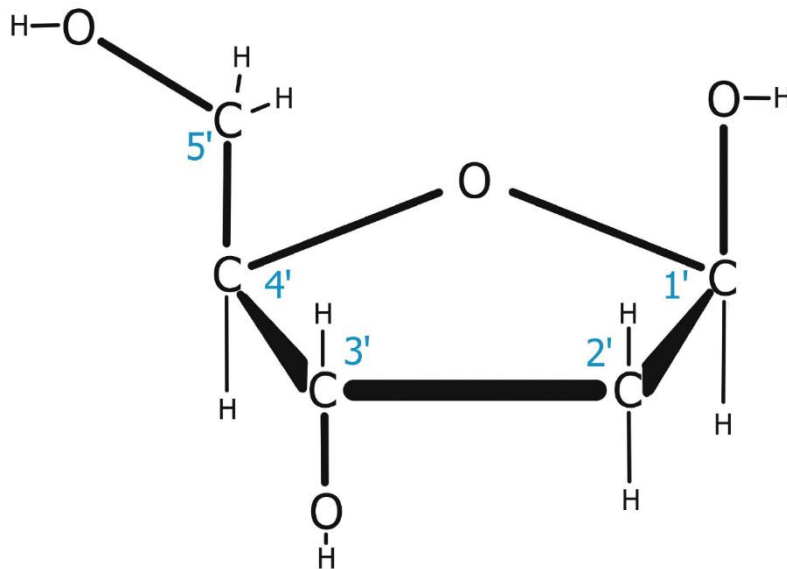


Figura 2.4: Estructura de la desoxirribosa.

Azúcar presente en el ADN, donde se une a la base nitrogenada correspondiente en el carbono C1'. El esqueleto azúcar-fosfato se forma mediante enlaces a grupos fosfato en los carbonos C5' y C3'.

Está formada por un anillo de cuatro carbonos (C1', C2', C3', C4') y un oxígeno (O4'), y un quinto carbono (C5') unido al C4' con un grupo hidroxilo (-OH), (Figura 2.4). Su falta de un grupo hidroxilo en C2' la diferencia de la ribosa, lo que contribuye a las diferencias entre estas dos azúcares en términos de función y estructura.

El azúcar es la parte más flexible y dinámica de la molécula de ADN, la desoxirribosa se puede empaquetar formando diferentes conformaciones, ya que algunos de sus átomos pueden estar fuera del plano que forman otros tres átomos del anillo (Figura 2.5). Se define la dirección *endo* como aquella que está hacia el carbono C5' y *exo* como la dirección opuesta.

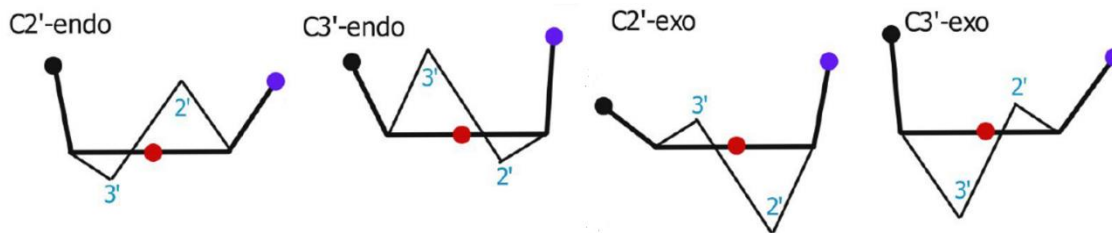


Figura 2.5: Empaquetamiento del azúcar.

A las desviaciones de los átomos del anillo se les designa como Xn' -endo si el átomo Xn' no es coplanar y sale en dirección de C5' o Xn' -exo si el átomo sale en sentido contrario.

La transición entre estos tipos de torsión de la desoxirribosa se conoce como pseudorrotación, siendo una propiedad de las pentosas, a través de ella el azúcar puede adoptar 20 conformaciones posibles sin llegar a ser plana. Esta transición se da siguiendo el *Círculo Pseudorrotacional* [30], que se ilustra en la siguiente Figura 2.6, parametrizado por P. En este círculo se pueden encontrar los 20 tipos de conformaciones, cada una separada por 18° de la siguiente.

Se consideran dos parámetros para describir estas configuraciones del azúcar: la fase del ángulo (P) y la amplitud de pseudorrotación (τ_M), derivados de los cinco ángulos de torsión del anillo [30].

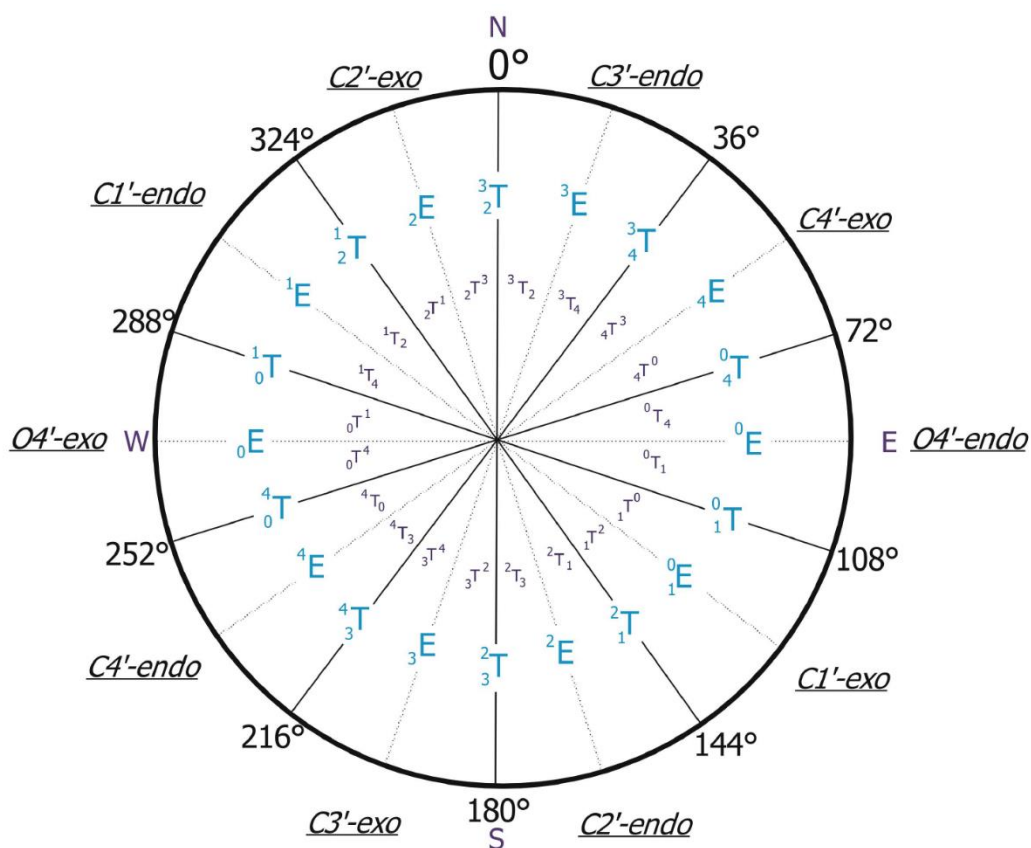


Figura 2.6: Círculo de pseudorrotación de la ribosa.

El anillo de desoxirribosa puede tomar 20 conformaciones diferentes, con $0^\circ \leq P < 360^\circ$.

Se indica si la conformación es envelope E o twisted T, el superíndice indica que el átomo que figura en él está en dirección hacia C5' (arriba) y el subíndice indica que este átomo está en dirección opuesta (abajo).

El fenómeno de empaquetamiento del azúcar (o *puckering*) ocurre debido a que un anillo de azúcar completamente plano se considera energéticamente desfavorable desde un punto de vista teórico. Para minimizar la energía, el sistema recurre al *puckering*, esto implica que el anillo adopta conformaciones con ángulos de torsión C-O cercanos a 0° y ángulos C-C escalonados al máximo. Como resultado, se forman diferentes *puckerings* según otros ángulos de torsión. En la naturaleza las formas más comunes en los nucleósidos son *C3'-endo* y *C2'-endo*. En el contexto del ADN, las formas **B** suelen presentar *puckerings* S y en algunos casos E, mientras que las formas **A** del ARN y ADN siempre exhiben *puckerings* de tipo N, (sección 2.6).

2.3 Nucleósidos

Los nucleósidos son moléculas orgánicas que constituyen las unidades básicas de los ácidos nucleicos, como el ADN y el ARN. Cada nucleósido está compuesto por dos componentes fundamentales, que ya revisamos en secciones anteriores: una **base nitrogenada** (en el caso del ADN puede ser A, G, C o T) y un **azúcar** (desoxirribosa para el ADN).

Un nucleósido se forma cuando se combinan una base nitrogenada con un azúcar mediante un enlace con el carbono C1' del azúcar y el nitrógeno de la base (N9 de las purinas o N1 de las pirimidinas) llamado enlace glucosídico. A su vez, la unión de un nucleósido con un grupo fosfato (P) da lugar a un nucleótido (Figura 2.7). El grupo fosfato es un ión poliatómico, donde el fósforo está unido a cuatro átomos de oxígeno mediante un enlace covalente doble y tres sencillos, teniendo así una estructura tetraédrica. Los nucleótidos desempeñan diversas funciones en las actividades celulares, como el transporte de energía (ATP y ADP) o en procesos de respiración celular (como NAD y FAD)[31].

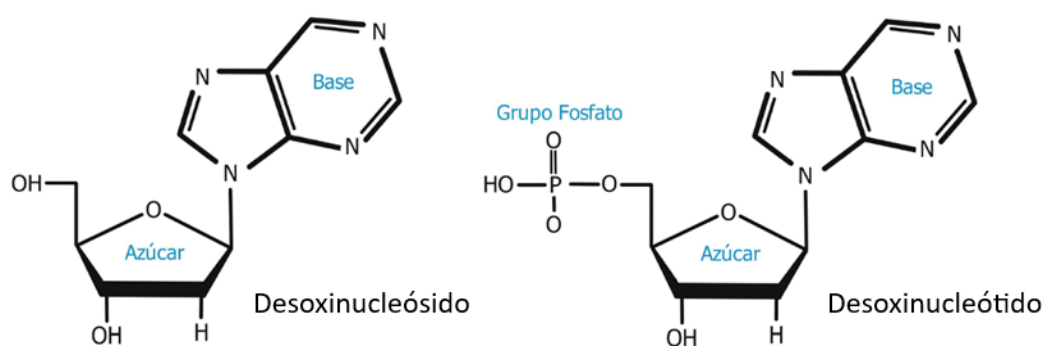


Figura 2.7: Estructura de desoxinucleósido y desoxinucleótido.

Un nucleósido es la unión de una base nitrogenada con el azúcar, un nucleótido es la unión entre un nucleósido y un grupo fosfato.

Los nucleósidos son los bloques de construcción esenciales para la formación de las cadenas de ADN, la unidad básica que compone las cadenas son los nucleótidos. Para formar las cadenas de ADN los nucleidos se unen mediante enlaces fosfodiéster. En el caso de la cadena que se extiende de 5' a 3', el enlace se establece entre el hidroxilo en C3' del primer nucleótido y el fosfato en C5' del siguiente. Para unir el azúcar y el grupo fosfato se emplean los carbonos C5' y C3'.

La estructura de un polinucleótido presenta dos extremos diferentes: 5' y 3'. Estos extremos poseen implicaciones tanto químicas como biológicas. Con frecuencia, en el ADN, el extremo 3' exhibe un grupo hidroxilo ($C3' -OH$), mientras que el extremo 5' presenta un único grupo fosfato ($C5' -PO_4$). El proceso de replicación y transcripción involucra la adición de un nucleósido trifosfato 5' al grupo hidroxilo 3' del nucleótido final en el polinucleótido.

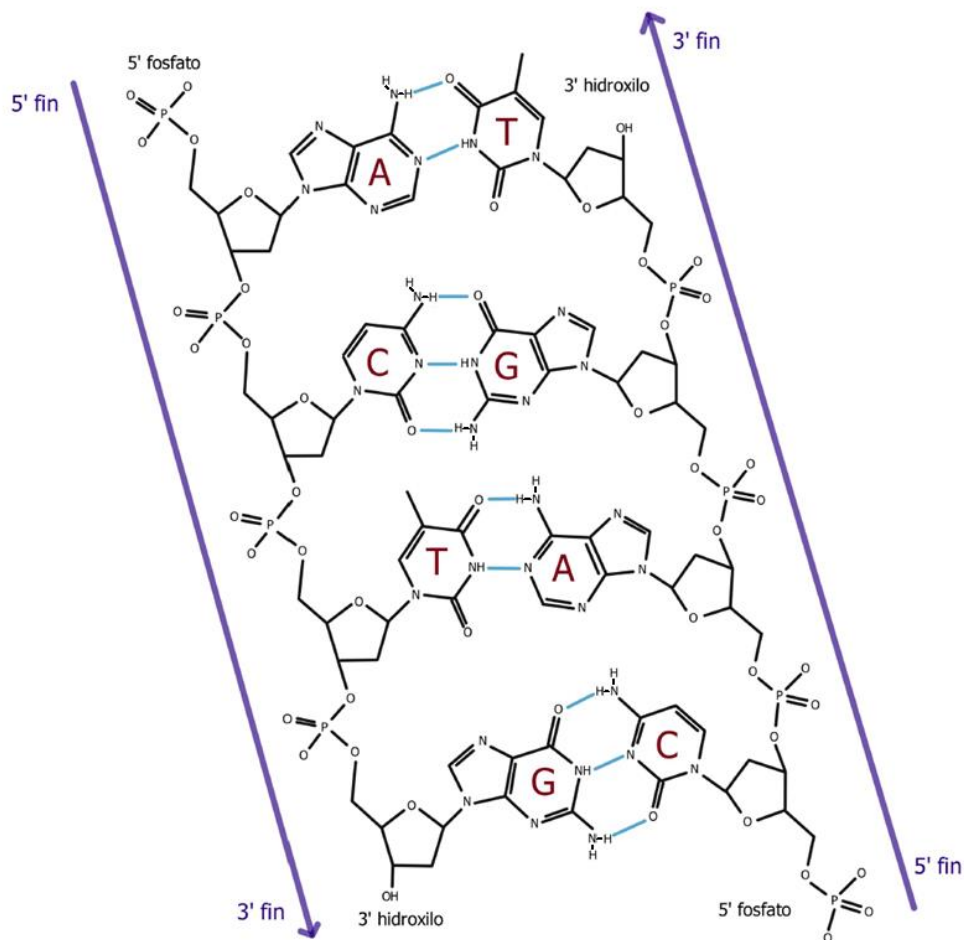


Figura 2.8: Cadena polinucleotídica del ADN.

Los nucleótidos forman cadenas antiparalelas, unidas mediante emparejamientos de Watson y Crick.

Como ya vimos, las bases de los nucleósidos son planas y pueden girar libremente alrededor del enlace glucosídico. Sin embargo, existen dos orientaciones predominantes de la base con relación al azúcar (Figura 2.9):

-
- Cuando la base se encuentra sobre el plano de la pentosa, se denomina **syn** (χ se encuentra entre 0° y 72°): En las purinas, el átomo de hidrógeno H8 se ubica sobre el azúcar, mientras que, en las pirimidinas, H6 se sitúa sobre el anillo del azúcar.
 - Cuando la base está alejada del plano de la pentosa, se llama **anti** (χ se encuentra cerca de 210°): En el caso de las purinas, el átomo H8 se aleja del azúcar, y el conjunto de la purina rota sobre él.

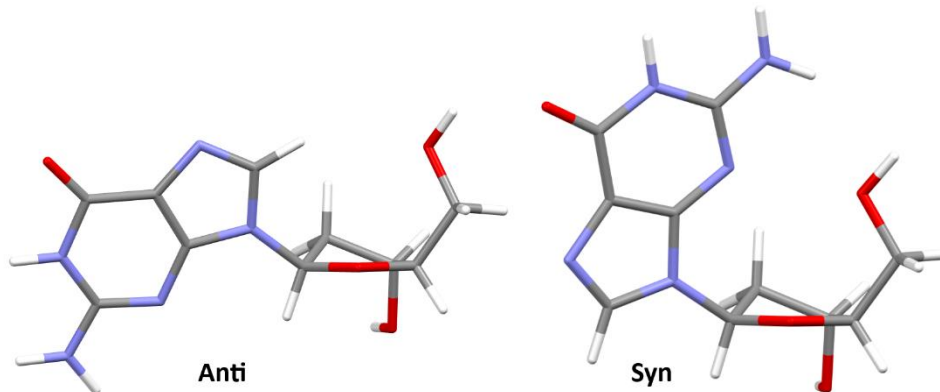


Figura 2.9: Orientaciones *anti* (izquierda) y *syn* (derecha) ilustradas para purinas. Podemos observar las diferentes posiciones que toma la base nitrogenada sobre el anillo del azúcar.

El empaquetamiento del azúcar se ve influenciado por modificaciones en la base, especialmente cuando el carbono C8 de la purina o C6 de la pirimidina se sustituye por grupos que cambian entre las orientaciones *syn* y *anti*. En general, la conformación *anti* se relaciona con el empaquetamiento del azúcar en una posición *C2'-endo*, sobre todo en el caso de las purinas [32].

2.4 Parámetros Estructurales

La geometría molecular se puede describir a través de la longitud de enlace, los ángulos de valencia y los ángulos de torsión. La longitud de enlace se refiere a la distancia promedio entre los centros de dos átomos conectados por un enlace covalente, medida en Ångströms (Å). Los ángulos de valencia, también conocidos como ángulos de enlace, son los ángulos formados por tres átomos consecutivos unidos por enlaces covalentes. En el caso de cuatro átomos consecutivos, el ángulo de torsión es la medida del ángulo entre el plano formado por los tres primeros

átomos y el plano de los tres últimos átomos. La información estructural se encuentra en los ángulos de torsión (Figura 2.10) y en la disposición del anillo de desoxirribosa (sección 2.2).

Para describir la configuración estructural del esqueleto azúcar-fosfato se definen seis ángulos de torsión principales (δ , γ , β , ε , α , ζ). Al analizar los nucleósidos, los ángulos δ y γ son particularmente relevantes, ya que proporcionan información crucial sobre la disposición del anillo de desoxirribosa [32].

El ángulo de torsión glucosídico χ es también muy importante, este se forma alrededor del enlace glucosídico establecido entre el átomo C1' del anillo de azúcar y el nitrógeno de su base adjunta.

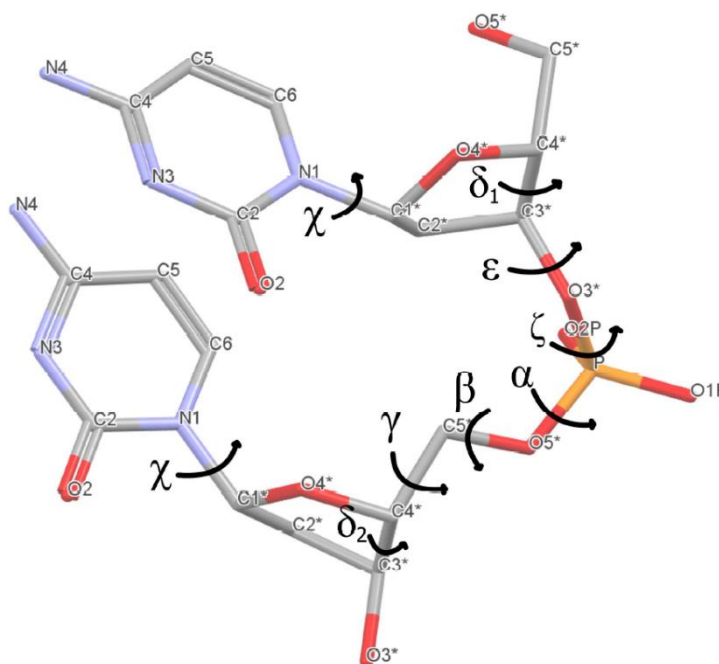


Figura 2.10: Designación de los ángulos de torsión para un desoxidinucleósido mono-fosfato (dDMP). Los ángulos de torsión principales son el ángulo glucosídico χ , y los ángulos δ , ε , ζ , α , β , γ , que se encuentran en la cadena azúcar-fosfato.

En los nucleósidos, todos los ángulos de torsión, con la excepción de γ , están correlacionados, pero en polinucleótidos incluso γ está involucrado. Esto significa que cualquier cambio en la estructura sigue un movimiento establecido. Para estructuras de moléculas orgánicas, los ángulos de torsión tienen diferentes notaciones, las más comunes son *cis* ($\sim 0^\circ$), *trans* ($\sim 180^\circ$), *gauche positiva* g^+ ($\sim +60^\circ$) y *gauche negativa* g^- ($\sim -60^\circ$) [32].

Existen otros parámetros que proporcionan información sobre la disposición de las bases y permiten una clasificación rápida de las estructuras (Figura 2.11). La superposición de las bases, denominado *Stacking*, cuantifica el grado de superposición entre las bases apiladas, y se expresa en unidades de $[\text{Å}^2]$. El parámetro *Propeller* mide el ángulo entre los planos de las bases complementarias, cuando una gira respecto a la otra alrededor del eje vertical. Por otro lado, *Buckle* se refiere al ángulo generado por el doblado de los planos de las bases alrededor del eje horizontal. En los pares de bases adyacentes donde se produce el apilamiento, dos parámetros clave son el *Helical Twist* (o *h-Twist*), que representa el ángulo de rotación alrededor del eje helicoidal, y el *Helical Rise* (o *h-Rise*) que indica la distancia promedio entre el par de bases, con un valor medio de aproximadamente 3.4 Å [32].

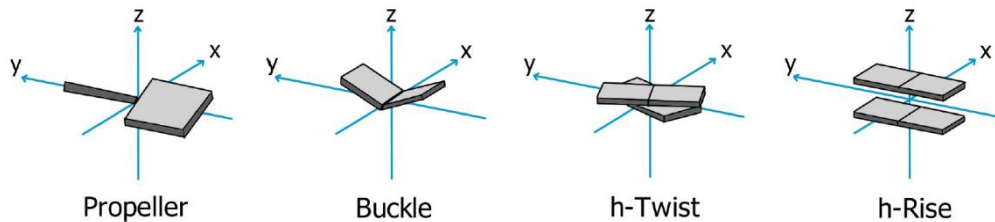


Figura 2.11: Parámetros sobre la disposición de las bases.

Se ilustran los parámetros *Propeller*, *Buckle*, *h-Twist* y *h-Rise* en un sistema de coordenadas rectangulares. Los cuadriláteros representan los planos de las bases nitrogenadas.

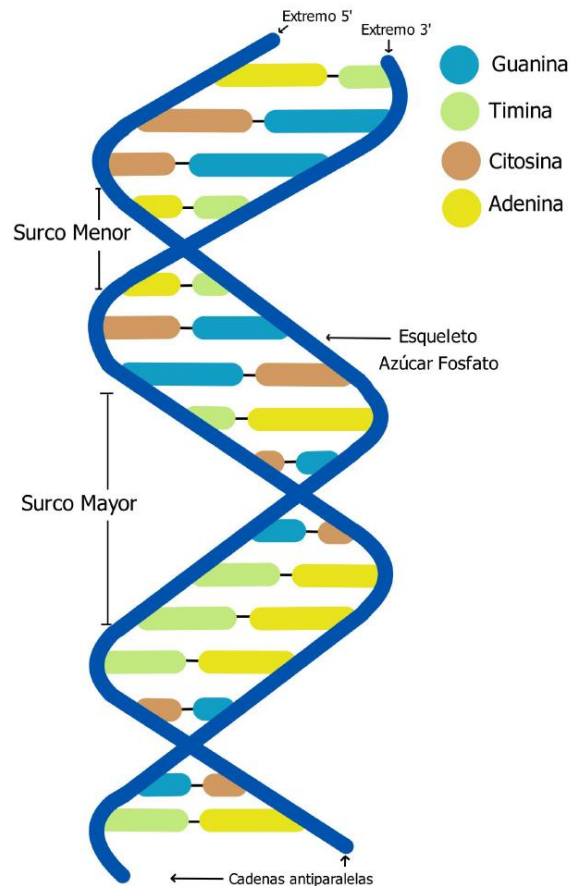
2.5 Niveles de Organización del ADN

El ADN presenta varios niveles de organización, que van desde la estructura básica de las bases nitrogenadas y su azúcar, hasta la organización a gran escala en la célula.

En los primeros niveles de organización tenemos las **bases nitrogenadas** (A, T, C, G) considerados como los componentes fundamentales del ADN. La secuencia de estas bases en una cadena de ADN constituye la información genética. Después sigue el nivel de los **nucleótidos** (Base + Azúcar + Grupo Fosfato), estas unidades monoméricas componen las cadenas de ADN, y la secuencia específica de nucleótidos en una cadena de ADN codifica la información genética.

Partiendo de esos fragmentos simples pasamos al nivel de la **doble hélice**, (Figura 2.12). El ADN se organiza en una estructura de doble hélice, donde dos

cadenas complementarias de nucleótidos se emparejan mediante enlaces de hidrógeno entre las bases nitrogenadas. El esqueleto azúcar-fosfato constituye la parte exterior de la hélice, mientras que las bases nitrogenadas se encuentran apiladas cerca del centro de la hélice cilíndrica. Esta estructura es esencial para la estabilidad del ADN y su función de replicación y transcripción. Las hélices tienen una direccionalidad que se refleja en la disposición de sus surcos en el espacio. La torsión de la doble hélice y la forma de las bases nitrogenadas generan un surco más amplio (surco mayor) y otro más angosto (surco menor). Ambos surcos se extienden a lo largo de la molécula de ADN y desempeñan un papel crucial como sitios de unión para proteínas encargadas de mantener y regular la actividad de los genes, en particular, en el surco mayor se encuentra la mayor capacidad informativa como consecuencia de la variabilidad de los grupos químicos.



*Figura 2.12: Doble hélice del ADN.
Las cadenas antiparalelas se enrollan alrededor de las bases unidas,
podemos observar los surcos mayor y menor.*

En las células, el ADN se empaqueta en estructuras más grandes llamadas **cromosomas**, cada cromosoma contiene una gran cantidad de información genética y se enrolla alrededor de proteínas llamadas histonas para formar una estructura compacta, que nos lleva al siguiente nivel.

Los **genes** son segmentos específicos de ADN que codifican proteínas o desempeñan funciones reguladoras en el organismo. Cada gen tiene una secuencia única de nucleótidos que determina su función. El siguiente nivel es el **genoma**, un conjunto completo de información genética de un organismo.

Así pasamos al nivel de la **organización celular**, el ADN se encuentra en el núcleo de las células eucariotas, donde está organizado en cromosomas. Las células pueden contener múltiples cromosomas, cada uno con su conjunto de genes.

Por último, el nivel de la **organización del organismo**, en un organismo multicelular, el ADN se encuentra en todas las células del cuerpo, y cada célula contiene la misma información genética. Sin embargo, diferentes células pueden expresar diferentes genes para llevar a cabo funciones específicas en el organismo.

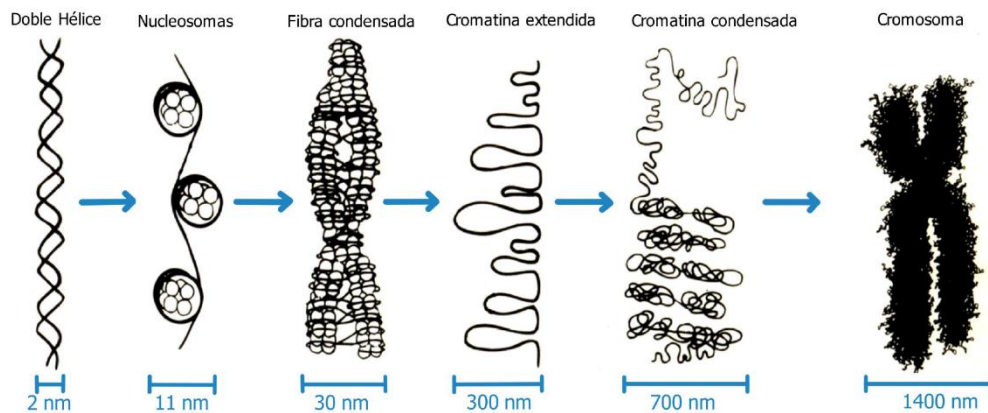


Figura 2.13: Niveles de organización del ADN.

Se ilustra la compactación y el enrollamiento de la doble hélice del ADN hasta formar los cromosomas.

Estos niveles de organización del ADN (Figura 2.13) son fundamentales para comprender cómo se almacena y transmite la información genética en los seres vivos.

2.6 Clases Conformacionales y Familias del ADN

El ADN puede existir en diferentes conformaciones o clases conformacionales [8], que varían en su estructura tridimensional. Estas clases conformacionales son importantes en el contexto de la biología molecular y desempeñan un papel crucial en diversos procesos biológicos. Las clases conformacionales, NtCs, están presentes incluso en fragmentos mínimos de ADN [33].

En publicaciones recientes [8], se estudiaron todos los fragmentos experimentales de ADN y ARN depositados en la Nucleic Acid Database (NDB), y en el Protein Data Bank (PDB). De esta manera, establecieron 96 NtCs de dDMPs, redefiniendo las clases conformacionales que se habían hecho anteriormente. Estos NtCs tienen distintos conjuntos de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato y ángulos glucosídicos (podemos observar estos ángulos en la Figura 2.10).

A su vez, esta diferencia en las clases conformacionales se puede englobar en las diferentes familias del ADN, la selección de una familia particular depende de la secuencia de bases y de las condiciones del entorno en el que se encuentra el ADN. En las diferentes familias se pueden encontrar los cambios en los parámetros vistos en la sección anterior. Se conocen tres familias principales: A-ADN, B-ADN y Z-ADN, (Figura 2.14).

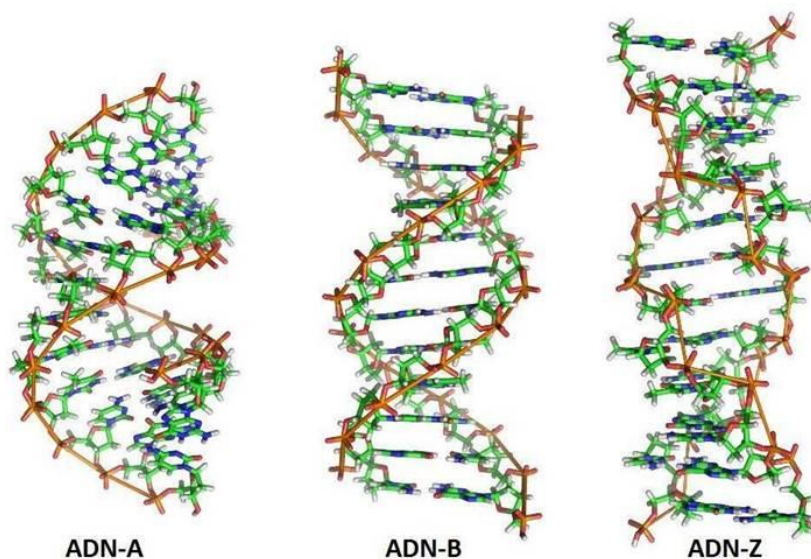


Figura 2.14: Familias A-ADN, B-ADN y Z-ADN.
Se ilustran las diferencias estructurales entre las familias.

La forma B-ADN es la más común y se encuentra en condiciones fisiológicas en la mayoría de las secuencias de ADN. Tiene una estructura de doble hélice en la que los surcos mayor y menor son claramente distinguibles. Esta familia representa el modelo propuesto por Watson y Crick, los pares A-T y G-C se sitúan casi perpendicularmente al eje de la hélice, formando una estructura regular y estable, gracias a los enlaces de hidrógeno entre los pares de bases y a su apilamiento. Esta doble hélice es una espiral dextrógira (se enrolla hacia la derecha). La conformación que adopta el azúcar es *E* (*envelope*) en conformación *C2'-endo* y la orientación del enlace N-glucosídico es *anti*. Esta familia tiene mayor interés biológico, ya que tiene mayor interacción con las proteínas.

La familia A-ADN presenta una estructura de doble hélice dextrógira similar a la anterior, pero con una torsión y una elongación ligeramente diferentes, esta familia se presenta cuando se deshidrata levemente el B-ADN, o bajo altas concentraciones de sales. Las bases están más separadas en comparación con la B-ADN, lo que la hace menos compacta, presentando un surco mayor mucho más estrecho y profundo que la forma B. Las conformaciones que adopta el azúcar en este caso son *C3'-endo* y *C2'-exo*.

El Z-ADN se diferencia de las anteriores por enrollarse hacia la izquierda (levógiro). Esta conformación es menos común y suele formarse en secuencias con alta concentración de nucleótidos con C y G, y en soluciones salinas. Puede estar asociada con la regulación y la recombinación genéticas. Esta hélice en general es más delgada y alargada.

Aparte de estas familias A, B y Z, el ADN puede asumir otras formas biológicamente relevantes, como cadenas de horquillas, hélices triples, entrecruzamientos de tres y cuatro hélices, G-cuadrúplex o cadenas paralelas. También existen conformaciones menores que representan transiciones entre las formas B y A, originadas por la interacción del ADN con complejos.

Existen clasificaciones, llamadas CANA, donde se agrupan las clases NtCs teniendo en cuenta varios factores, como el empaquetamiento de los azúcares presentes en el dDMP, así como otros parámetros relevantes. Las clasificaciones CANA son: AAA, AAw, AAu, A-B, B-A, BBB, BBw, B12, miB, ICL, OPN, SYN y ZZZ [34]. Los valores que definen cada conformación se obtienen con el promedio de los ángulos de torsión SPB y glucosídicos, considerando una amplia variedad de conformeros, que son dinucleótidos con diversas torsiones. La mayoría de estos conformeros exhiben características típicas de las principales familias

conformacionales (AI, AII, BI, BII, ZI y ZII), y algunos presentan conformaciones correspondientes a estados de transición entre las formas A y B.

Específicamente, la configuración B del ADN está compuesta por un conjunto de cinco grupos (BBB, B12, miB, BBw y BB2) que detallan la diversidad del SPB y comparten características de la forma B, como el plegamiento de ambos azúcares en C2'-endo. El grupo BBB abarca la clase conformacional canónica BB00, así como la conformación menos común BB01. Los demás grupos se caracterizan por tener algunas torsiones diferentes a las típicas de BB00 y BB01. En la Tabla 2.1, se muestran los valores para los ángulos de torsión de algunas clases conformacionales importantes.

Tabla 2.1: Ángulos de torsión característicos de algunas clases conformacionales A y B del ADN. Los ángulos de torsión están expresados en [°].

CC	Descripción	χ_1	χ_2	δ_1	ε	ζ	α	β	γ	δ_2
BB00	Forma B canónica (BI)	253	258	138	183	258	304	180	44	138
BB01	Variante de BI	248	244	131	181	266	301	176	49	120
BB02	BI con α/γ (g+/g-)	252	253	141	194	246	31	195	297	150
AA00	Forma A canónica	199	200	82	206	288	293	173	55	82
AA02	ADN-A con χ_1/χ_2 tipo BI	245	246	88	202	274	293	161	54	88
AB01	Transición de A a B	223	256	86	186	281	301	179	54	142

La familia BBB describe la conformación canónica BB00, así como la conformación BB01 menos común. En BBB, ambos azúcares adoptan la configuración C2'-endo, los ángulos de torsión glucosídicos se sitúan alrededor de 250°, y muestra un patrón distintivo en los ángulos δ (~140°) y γ (~45°). La clase predominante BB00 exhibe estas características, al igual que la clase similar BB01, que presenta ligeras variaciones en sus ángulos de torsión, según se detalla en la Tabla 2.1.

Además de las conformaciones clásicas BI (BB00, BB01) y BII (BB07) pertenecientes a la familia B-ADN, hay otras conformaciones menos comunes que exhiben características estructurales inusuales, mostrando valores no convencionales en ciertas torsiones. A pesar de ello se clasifican dentro de la familia B-ADN, ya que presentan características típicas de dicha familia. Dentro de esta familia está la clase BB02 (también estudiada en el presente trabajo), y se distingue por una variación en los valores de los ángulos α (g+, ~30°) y γ (g-, ~300°) en comparación con los valores canónicos.

En el presente trabajo, se consideran también algunas clases conformacionales menos comunes en la naturaleza, pero existentes. Como aquellas con orientación *syn* de la base respecto al azúcar, o clases presentes en la estructura del Z-ADN.

La clasificación en las distintas clases conformacionales se realiza teniendo en cuenta los ángulos de un dDMP, como se muestra en la Tabla 2.1. Para un nucleósido individual, faltarían ángulos de torsión necesarios para su clasificación, por lo que consideramos los ángulos del segundo nucleósido. Por lo tanto, cuando afirmamos que un nucleósido pertenece a una determinada clase conformacional, significa que sus ángulos de torsión coinciden con los correspondientes al segundo nucleósido de las tablas de clases conformacionales. Para aquellas estructuras que correspondan a un mínimo de energía, pero cuyos ángulos de torsión no coincidan con el segundo nucleósido del dDMP catalogado, se utiliza la designación NANT (CANA NAN), cuya descripción es *conformaciones no asignadas* [8].

Capítulo 3. Metodología

En el presente trabajo, se usaron dos modelos para estudiar la estructura molecular de sistemas importantes para la biofísica molecular, en específico para la búsqueda de mínimos de energía de interacciones intermoleculares para desoxinucleósidos naturales y desoxinucleósidos modificados. Uno de ellos es el modelo de Mecánica Molecular (MM), el cual nos permite modelar estructuras geométricas y la interacción energética para varios sistemas moleculares con un bajo costo computacional. El otro es el modelo Mecánico Cuántico (MC), basado en resolver la ecuación de Schrödinger usando aproximaciones y herramientas computacionales poderosas. Este último método es usado preferiblemente para moléculas pequeñas, por su gran consumo de recursos.

La metodología de este trabajo se puede presentar en diferentes etapas, primero se realizó una búsqueda y preparación de los fragmentos simples del ADN, después una obtención de los diferentes mínimos locales de los fragmentos simples, utilizando métodos de ambos modelos (MM y MC), para finalizar con un análisis configuracional de los resultados obtenidos.

Para realizar la búsqueda de mínimos, se usó una gran variedad de posiciones atómicas iniciales. Las estructuras iniciales se tomaron a partir de las coordenadas atómicas de nucleósidos, nucleótidos y cristales de fragmentos de ADN. Estas coordenadas se obtienen con técnicas experimentales de difracción de rayos X y se almacenan en bases de datos, como la Protein Data Bank (PDB) [35], Nucleic acid DataBase (NDB) [36], y Cambridge Structural Database (CSD) [37]. Una vez identificadas las estructuras iniciales, se recortaron y prepararon los nucleósidos, la continuación de las cadenas ubicadas en O5' y O3' se reemplazan con átomos de hidrógeno.

Para cada fragmento optimizado se miden los parámetros que describen la configuración del ADN usando el programa de visualización Mercury [38]: los ángulos de torsión del SPB presentes en nucleósidos (δ , ϵ , β , γ), el ángulo glucosídico (χ) y el ángulo de pseudorrotación (P).

3.1 Modelo de Mecánica Molecular

En MM se utilizan los principios de la mecánica clásica para emular sistemas moleculares, sin importar su tamaño y complejidad. Actualmente este método raramente se utiliza para calcular sistemas simples como los que se abordan en este trabajo, usualmente es usado con fragmentos de biopolímeros y sus complejos, conteniendo miles de átomos. En años recientes, Poltev et. al [39, 40] publicaron revisiones, historia, limitaciones y proyecciones para este método. En este trabajo, se aplica este método a sistemas simples para discutir las posibilidades y limitaciones de los diferentes campos de fuerzas en los cálculos de interacciones de desoxinucleósidos naturales y modificados, y para comparar esos cálculos con los resultados obtenidos por diferentes métodos de MC.

Podemos considerar este método como una extensión de la representación de los átomos y enlaces en la molécula y sus complejos en química clásica [40]. Se consideran a los átomos como esferas y se toma en cuenta la aproximación de Born-Oppenheimer [41]. Bajo esta aproximación el núcleo del átomo se mueve en el campo fijo generado por el promedio de las densidades electrónicas que cambian rápidamente con respecto al movimiento del núcleo. Entonces, los movimientos nucleares son determinados en términos de una superficie de energía potencial (PES), que solo depende de las posiciones de los núcleos atómicos y que está expresada por un potencial efectivo donde se consideran los efectos electrónicos [42].

3.1.1 Campos de Fuerzas

La fórmula general para la energía potencial del sistema (ec. 3.1), contiene los términos responsables de cambios en la energía debido a las longitudes de enlaces químicos (E_l), debidos a los ángulos de valencia (E_a) y a los ángulos de torsión (E_t). Además, contiene los términos que describen las interacciones por pares de los átomos no enlazados mediante enlaces químicos (E_{nb}).

$$E = \Sigma E_l + \Sigma E_a + \Sigma E_t + \Sigma E_{nb} \quad (3.1)$$

Cada término de las interacciones átomo-átomo no-enlazantes contiene un término de Coulomb (interacción de las cargas efectivas en los átomos q_i y q_j) y los términos de atracción y repulsión de van der Waals, en la forma de potenciales 1-6-12 (ec. 3.2).

$$E_{ij}(r_{ij}) = \frac{Kq_iq_j}{r_{ij}} - \frac{A_{ij}}{r_{ij}^6} + \frac{B_{ij}}{r_{ij}^{12}} \quad (3.2)$$

Donde r_{ij} es la distancia entre los átomos i y j , A_{ij} y B_{ij} son parámetros semi-empíricos. Los campos de fuerzas difieren entre ellos por cambios pequeños en las fórmulas usadas para calcular cada uno de los términos. Estas diferencias en los parámetros pueden ser muy grandes, sin embargo, las energías totales calculadas con diferentes sistemas de parámetros no difieren tanto [43].

Los términos de energía de la ecuación 3.1, dependen de la posición de los átomos y de los parámetros ajustables. Una variación en la posición de los átomos produce un cambio en la energía potencial. De esta forma, cuando la estructura representa un mínimo en la superficie de la energía potencial del sistema, consideramos que la estructura está optimizada.

Las cargas eléctricas de los átomos en los nucleósidos naturales que se utilizarán se publicaron en el artículo de Cornell et al de la ref. [23]. Mientras que las cargas para los nucleósidos modificados se obtuvieron con el método de potencial electrostático restringido (RESP por sus siglas en inglés) usando el software Gaussian 16 [44]. Se usaron dichas cargas junto con los otros parámetros de los campos de fuerza BSC1 [45], OL15 [46] y FF99 [47] para hacer las optimizaciones geométricas y encontrar la energía mínima usando el software AMBER [4], estos campos de fuerzas son específicos para el estudio de los ácidos nucleicos. Además, se hicieron cálculos con el software y campo de fuerzas CHARMM [5]. Las diferencias entre los campos de fuerzas se presentan en el término energético, particularmente en los parámetros.

El software y campos de fuerzas AMBER (Assisted Model Building with Energy Refinement) y CHARMM (Chemistry at HARvard Macromolecular Mechanics) son los recursos computacionales más populares diseñados para una amplia clase de biomoléculas, incluyendo proteínas y ácidos nucleicos [40].

3.1.2 Optimización Geométrica con Mecánica Molecular

La optimización geométrica en los softwares AMBER y CHARMM se refiere al proceso de ajustar las coordenadas atómicas de una molécula para encontrar la configuración que minimiza la energía potencial del sistema. Este proceso es fundamental en la determinación de estructuras moleculares más estables. Para el proceso de optimización geométrica debemos tener en cuenta los siguientes pasos:

-
- 1. Preparación del sistema:** Se selecciona una estructura inicial sobre la cual identificamos y recortamos el desoxinucleósido de interés. Se proporcionan las coordenadas iniciales de la molécula y se especifica la topología molecular, que incluye detalles sobre los átomos, enlaces, ángulos y diedros. También se selecciona un campo de fuerzas apropiado.
 - 2. Visualización y edición de la molécula:** AMBER incorpora el editor *xLeap* donde podemos visualizar la molécula y ajustar los detalles sobre los átomos (cargas, tipos de átomos y nombres). Usando este editor podemos guardar los archivos con los parámetros y con las coordenadas de la molécula que usaremos en el siguiente paso.
 - 3. Minimización de energía:** Se realiza una minimización de energía utilizando un algoritmo de optimización para ajustar las posiciones atómicas y eliminar tensiones y superposiciones entre átomos. AMBER proporciona el módulo *sander* para llevar a cabo este proceso, mientras que CHARMM utiliza su propio script de entrada para realizar la minimización. En este paso se establecen los criterios de terminación para la minimización, como un número máximo de iteraciones o un umbral de energía potencial máxima.
 - 4. Análisis de resultados:** Después de la optimización, se analizan los resultados para evaluar la convergencia y las características conformacionales de la estructura. En los archivos de salida podemos consultar la energía potencial de cada paso y las diferentes contribuciones energéticas que suman la energía total del sistema.
 - 5. Visualización y presentación:** Se utilizaron herramientas de visualización tridimensional, como Mercury [38] o Chimera [48], para examinar la estructura optimizada y realizar análisis visuales. También se miden los diferentes ángulos de torsión importantes y las distancias entre átomos relevantes, para su presentación en tablas y gráficas.

El procedimiento puede variar según el tipo de optimización que se esté llevando a cabo. Por ejemplo, se realizaron optimizaciones de energía potencial con restricciones en ciertos átomos o enlaces. También se pueden llevar a cabo optimizaciones geométricas específicas, considerando estructuras iniciales construidas a partir de modificaciones de otros mínimos.

3.1.3 Simulaciones de Dinámica Molecular

Las simulaciones de Dinámica Molecular (DM) son una herramienta esencial para estudiar la evolución temporal y dinámica de sistemas biológicos a nivel atómico. En este trabajo, implementamos simulaciones de DM para explorar la evolución temporal de las estructuras de fragmentos de ADN, en particular de desoxinucleósidos, con un enfoque particular en la variación de sus clases conformacionales. Utilizamos el software AMBER para llevar a cabo las simulaciones de DM. Se empleó el campo de fuerzas BSC1, adecuado para describir las interacciones entre átomos, y se incorporó el método de solvente implícito Generalized Born (sección 3.1.4), para tener en cuenta los efectos del solvente de manera eficiente.

La DM se basa en la segunda ley de movimiento de Newton (ec. 3.3),

$$F = ma \quad (3.3)$$

donde F es la fuerza ejercida sobre una partícula, m es su masa y a su aceleración. La integración de las ecuaciones del movimiento producirá una trayectoria que describe las posiciones, velocidad y aceleraciones de las partículas en función del tiempo. A partir de esta trayectoria, se pueden determinar los valores promedio de las propiedades del sistema.

Realizamos simulaciones a diferentes temperaturas y tomando como punto de partida diferentes posiciones atómicas iniciales, la temperatura no solo afecta la estabilidad de las estructuras, sino que también puede inducir cambios conformacionales significativos. Nos enfocamos en la identificación de cambios en las clases conformacionales de los fragmentos de ADN, definidas previamente en nuestro estudio.

La DM en el software AMBER sigue un conjunto de pasos bien definidos para simular la evolución temporal de un sistema molecular:

- 1. Preparación del sistema:** Se proporcionan las coordenadas iniciales del sistema, que incluyen la información sobre la posición de cada átomo en la molécula. Se especifica la topología molecular, que incluye detalles sobre los átomos, enlaces, ángulos y diedros presentes en el sistema. Se elige un campo de fuerzas que define los potenciales de energía y los términos cinéticos asociados con las interacciones entre átomos, en particular utilizaremos el campo de fuerzas BSC1. Además, se indican los parámetros para la simulación:

número de pasos, duración entre cada paso, radio de corte, temperatura y presión.

2. **Minimización de energía:** Se realiza una minimización de energía para ajustar las posiciones iniciales y eliminar tensiones y superposiciones entre átomos.
3. **Temperatura y presión:** Usamos un ensamble con presión constante. El sistema se calienta a la temperatura indicada para equilibrar las velocidades y energías cinéticas de las partículas. Además, el sistema se equilibra bajo la presión deseada.
4. **Simulación en DM:** Se lleva a cabo la simulación propiamente dicha. En cada paso de tiempo se calculan las fuerzas entre átomos basadas en el campo de fuerzas y se resuelven las ecuaciones de movimiento para actualizar las posiciones y velocidades de las partículas. Para avanzar en el tiempo se utilizan algoritmos de integración numérica. Las simulaciones de DM en AMBER también pueden incorporar técnicas avanzadas, como métodos de solvente implícito.
5. **Análisis de resultados:** Después de completar la simulación, se realiza un análisis detallado de los resultados, incluyendo la evaluación de trayectorias, energías, clases conformacionales, y otros parámetros relevantes.
6. **Visualización:** Los resultados se pueden visualizar y analizar mediante herramientas gráficas, en particular utilizando el software Chimera [48], que muestran la evolución de la estructura del sistema a lo largo del tiempo.

La DM en AMBER permite simular el comportamiento molecular con gran detalle y proporciona información valiosa sobre la dinámica, la estructura y las interacciones en los fragmentos de ADN.

3.1.4 Método de solvente implícito

Hemos incorporado el método de solvente implícito de Born generalizado (GBIS por sus siglas en inglés) [49] en nuestras simulaciones computacionales, específicamente en combinación con los softwares AMBER y CHARMM. Este enfoque ofrece una aproximación eficaz para tener en cuenta el efecto del solvente, particularmente el agua, en nuestros cálculos. El método de GBIS es una aproximación más eficiente computacionalmente en comparación con la inclusión explícita de cada molécula de solvente.

El agua como solvente implícito se implementó mediante el método de Generalized Born, una técnica que tiene en cuenta la polarización del solvente y las interacciones entre solutos y solvente. Esta aproximación ofrece un equilibrio razonable entre la precisión de los resultados y el costo computacional asociado. En el contexto de optimizaciones geométricas de MM, esta inclusión nos proporciona una descripción más realista de las estructuras moleculares en solución. Este enfoque se ha integrado con la optimización geométrica y con simulaciones de DM en AMBER, permitiendo explorar la dinámica de las moléculas en entornos acuosos.

La teoría subyacente de GBIS se basa en el modelo de Born, que describe la energía de solvatación de una partícula cargada en un solvente. Utiliza un radio efectivo para cada átomo (R_i) para tener en cuenta su tamaño y su interacción con el solvente, calculado a partir del radio de Born, que es el radio que tendría un átomo si solo interactuara con el solvente. La energía de solvatación se aproxima utilizando el potencial de Born, y se puede expresar como:

$$G_i = \frac{1}{4\pi\epsilon} \sum_j \frac{q_i q_j}{R_{ij}} \left(1 - \frac{1}{\epsilon R_{ij}}\right) \quad (3.4)$$

Donde q_i y q_j son las cargas de los átomos i y j , respectivamente; R_{ij} es la distancia entre los centros de los átomos; y ϵ es la constante dieléctrica del solvente.

La ecuación 3.4, se generaliza para incluir todos los átomos en la molécula, y se obtiene una ecuación que describe la energía de solvatación total del sistema. Esta energía se incorpora en las ecuaciones de MM y DM para simular al sistema en presencia del solvente implícito.

El agua es un gran contribuyente al mantenimiento de la estructura tridimensional de los ácidos nucleicos, por lo tanto, la inclusión de solvente en los cálculos nos da un enfoque para modelar de manera más realista el comportamiento de las estructuras moleculares en entornos acuosos. El solvente implícito proporciona una solución eficiente y precisa al considerar los efectos del entorno acuoso sin requerir la representación explícita de cada molécula de agua.

3.2 Modelo de Mecánica Cuántica

El principal objetivo del método MC es resolver la ecuación de Schrödinger independiente del tiempo y determinar la estructura electrónica de los átomos y moléculas. Sin embargo, los sistemas con más de dos partículas no tienen solución analítica, por lo que se usan ciertas aproximaciones. La primera de ellas es la aproximación de Born-Oppenheimer, donde se considera la diferencia entre las masas del núcleo y los electrones. Para resolver la función de onda del sistema se necesita otra aproximación, donde se considera el orbital molecular como una combinación lineal de orbitales atómicos (CLAO). Ya que no hay forma analítica dada para los orbitales atómicos, se necesitan modelos numéricos, como el método de campo auto-consistente Hartree-Fock (HF) [50]. En los cálculos realizados con MC se seleccionó una geometría cercana a la obtenida con optimizaciones de MM para los diferentes conformeros.

3.2.1 Método ab initio

Este método es usado cuando requerimos cálculos lo suficientemente estrictos, y a su vez, que no requieran demasiados recursos computacionales para todas las optimizaciones que realizamos tomando diferentes coordenadas iniciales. En particular, los nucleósidos tienen un número muy pequeño de átomos, por lo que los cálculos son rápidos, aún usando este método.

La teoría de perturbación de Möller-Plesset (MP) es una mejora del método HF que añade los efectos de correlación electrónicos por medio de la teoría de perturbación de Rayleigh-Schrödinger (RS-PT), usualmente se usa la teoría de segundo (MP2), tercer (MP3) o cuarto (MP4) orden [27]. Estos ordenes de los cálculos MP son niveles estándar usados para calcular sistemas pequeños y están implementados en muchos códigos computacionales de química. Los niveles más altos para cálculos de MP están disponibles en algunos códigos, pero son raramente usados por su alto costo computacional.

En el presente trabajo usamos el segundo orden de esta teoría MP2, con los conjuntos de bases $6-31G(d',p')$ y $aug-cc-pVTZ$, mediante el software Gaussian 16 [44]. La designación $6-31G(d',p')$ en química computacional representa información específica sobre la precisión y el tamaño de las funciones de base utilizadas en cálculos teóricos. El número principal (6) indica el número de funciones de base primitivas utilizadas para describir cada orbital atómico (en este caso se utilizan seis funciones

de base primitivas). El número de funciones de polarización (3) indica el número de conjuntos adicionales de funciones (funciones de polarización) que se utilizan para mejorar la descripción de la polarización electrónica. La letra (G) representa la función de base más grande y, por lo general, indica que se incluyen orbitales de funciones gaussianas más complejas para proporcionar una descripción más precisa de la forma de los orbitales atómicos. Dado que en la mayoría de los enlaces moleculares principalmente los electrones de valencia son los que forman parte del enlace, es común representar a los orbitales de valencia con más de una función base. Esto se hace al escribir a cada una de ellas como una combinación lineal fija de Gaussianas primitivas. A este tipo de conjuntos se les llama Conjuntos de Valencia Dividida y se denotan de la siguiente forma: X-YZg. Donde X representa el número de las Gaussianas primitivas que componen cada función base del orbital atómico del núcleo, Y y Z indican que los orbitales de valencia se componen de dos funciones base cada una, la primera compuesta de una combinación lineal de Y-gaussianas primitivas y la otra de Z-gaussianas primitivas. En este caso, la presencia de dos números después del guión indica que este conjunto base es de valencia dividida doble-zeta. Los conjuntos base de valencia dividida triple y cuádruple-zeta se denotan como X-YZWg y X-YZWVg.

El conjunto de bases *aug-cc-pVTZ* es una elección específica de funciones de base para cálculos MP2 que incluye funciones difusas para mejorar la descripción de los electrones en las regiones externas del sistema y está diseñado para proporcionar resultados precisos en términos de correlación electrónica. Aquí, *aug* (augmented) indica que se ha agregado un conjunto adicional de funciones difusas para mejorar la descripción de los electrones en las regiones exteriores del sistema; *cc-p* (correlation-consistent polarized) se refiere a que las funciones de base están diseñadas para describir adecuadamente la correlación electrónica; *VTZ* (valence Triple zeta) se refiere al conjunto específico de funciones utilizadas, en este caso se ha utilizado un conjunto triple zeta para describir los electrones de valencia.

3.2.2 Teoría del Funcional de la Densidad

Los métodos ab-initio descritos anteriormente tienen limitaciones computacionales para hacer cálculos con conjuntos base más grandes en moléculas que consisten en muchos átomos y electrones. Para este problema, se conoce un método alternativo, donde se propone una solución a través de la densidad de probabilidad electrónica. Este método es conocido como la teoría del funcional de la

densidad (DFT por sus siglas en inglés), se puede considerar como un buen ajuste entre la precisión de los resultados y el costo de su obtención, y se ha convertido en uno de los métodos más populares para calcular la estructura electrónica y las propiedades de biomoléculas.

A lo largo de los años, se desarrollaron una variedad de funcionales con mayor precisión que consideran el intercambio de energía entre electrones; estos funcionales usados en DFT tienen diferentes nombres, uno de los más usados es el funcional Perdew-Burke-Ernzerhof, conocido como *PBE* [6].

En este trabajo usamos el software Gaussian 19 con el funcional *PBE* y el conjunto de bases *6-31G** para el método DFT. Además, se incluyen cálculos hechos con el software Amsterdam Density Functional (ADF) [51], en particular con funcionales *PBE*, *PW91* y *PBE-D*. En el conjunto de bases *6-31G**, tenemos una designación parecida a la descrita para el conjunto de bases de MP2: 6 funciones primitivas que describen la función de onda de los electrones en cada átomo; 3 funciones adicionales utilizadas para describir la función de onda de los electrones, específicamente en el conjunto de funciones gaussianas asociadas a los electrones más internos; la G significa que se están utilizando funciones gaussianas para representar los orbitales atómicos; y el * indica que se han agregado funciones de polarización adicionales para describir la polarización de los electrones debido a la interacción con el entorno circundante.

3.2.3 Optimización Geométrica con métodos de Mecánica Cuántica

La optimización geométrica en el software Gaussian 19 utilizando métodos de DFT y MP2 es parecida a la realizada con MM (sección 3.1.2), se necesitan ajustar las coordenadas atómicas de una molécula para encontrar la geometría que minimiza la energía total. Esta es una descripción general del proceso:

- 1. Preparación del sistema:** Se proporcionan las coordenadas iniciales de la molécula en el formato reconocido por Gaussian. Aquí se define la teoría y los métodos a utilizar.
- 2. Definición de parámetros:** Se especifican los parámetros adicionales, como los diferentes funcionales de DFT o conjuntos base de MP2, la memoria, la precisión y otros ajustes específicos.
- 3. Generación de archivos de entrada:** Se crea un archivo de entrada para Gaussian (*.gjf*) que incluye la información sobre la teoría, el método, las coordenadas iniciales y otros ajustes necesarios.

-
4. **Ejecución de Gaussian:** El software Gaussian que se usó para los cálculos del presente trabajo se encuentra instalado en el *Laboratorio Nacional de Supercómputo del Sureste de México*, donde se asignaron usuarios y particiones para realizar los cálculos. Ahí es donde se ejecuta Gaussian con el archivo de entrada creado.
 5. **Visualización y análisis de resultados:** Después de la ejecución, Gaussian generará archivos de salida que contienen información sobre la optimización geométrica, incluyendo la energía total en cada paso y las coordenadas optimizadas. Estos archivos de salida los analizamos usando el software Chemcraft [52], donde también se realizan las mediciones para su presentación en tablas y gráficas.

Capítulo 4. Resultados

En el presente trabajo no buscamos encontrar todos los mínimos de energía posibles, en su lugar, nos concentramos en las conformaciones relacionadas a resultados experimentales de nucleósidos, nucleótidos y fragmentos de ADN. Se hizo una búsqueda de mínimos energéticos para los desoxinucleósidos naturales del ADN y aquellos con modificaciones en la base. La optimización geométrica se realizó mediante los métodos computacionales descritos en el capítulo anterior, y los resultados revelaron mínimos energéticos asociados con las clases conformacionales BB00, AA00 y BB02 [31].

Se identificaron mínimos energéticos que coinciden con la conformación canónica BB00, caracterizada por un plegamiento del azúcar en configuración $C2'$ -endo, esto sugiere una conformación estable y favorecida para los nucleósidos. La presencia de mínimos energéticos asociados con la conformación AA00 indica que los nucleósidos pueden adoptar estructuras que comparten similitudes con la conformación A-ADN. Este fenómeno puede tener implicaciones en la dinámica y estabilidad estructural.

En la Figura 4.1, se presenta la asignación de los ángulos de torsión específicos para dDMP y desoxinucleósidos. Recordemos que los ángulos glucosídicos χ , y los ángulos γ y δ del azúcar, son de gran relevancia para clasificar los nucleósidos en las distintas clases conformacionales del ADN.

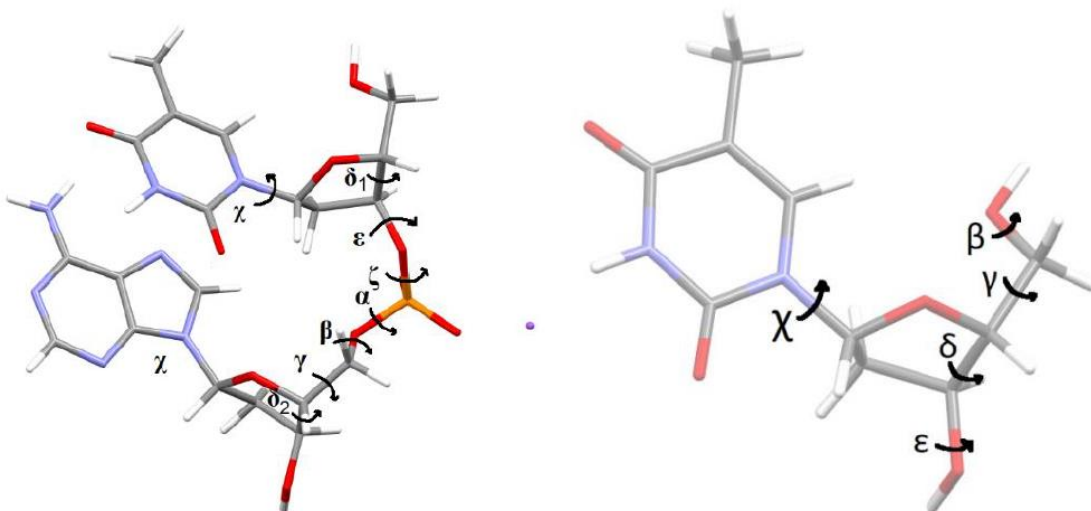


Figura 4.1: Designación de los ángulos de torsión para dDMP (dCpdA como ejemplo, izquierda) y para desoxinucleósidos (desoxitimidina como ejemplo, derecha).

Este capítulo presenta una exploración detallada de las estructuras energéticamente favorables de los desoxinucleósidos. Las siguientes secciones abordarán en detalle los hallazgos específicos para cada grupo de desoxinucleósidos, naturales y con modificaciones en la base.

4.1 Desoxinucleósidos Naturales

A continuación, se presentan las tablas que detallan los mínimos de energía obtenidos para los cuatro desoxinucleósidos naturales (desoxiadenosina, desoxiguanosina, desoxitimidina y desoxicitidina) mediante los métodos de MM y MC. Los resultados obtenidos con los diferentes campos de fuerzas AMBER son parecidos, en las tablas se muestran únicamente los mínimos de energía obtenidos con el campo BSC1. En el caso de las optimizaciones con agua como solvente implícito se usa la designación GB, refiriéndose al método GBIS (sección 3.1.4) implementado tanto en AMBER como en CHARMM.

En la primera columna de estas tablas se especifica el método utilizado para la obtención del mínimo de energía, seguido por la indicación de la clase conformacional a la que pertenece, en la segunda columna. La tercera columna muestra la energía en *kcal/mol*, mientras que la cuarta columna presenta la diferencia energética entre las diferentes clases conformacionales para cada método (en *kcal/mol*), tomando la energía para la clase conformacional BB00 como referencia (valor 0).

Las siguientes cinco columnas contienen los ángulos de torsión más relevantes para la clasificación de los nucleósidos, seguidos del ángulo de pseudorrotación. La última columna nos indica el empaquetamiento o puckering del azúcar correspondiente. Además, se incluyen filas con los promedios de los ángulos de torsión para nucleósidos en las clases conformacionales BB00, AA00 y BB02.

En algunas optimizaciones, se observan enlaces de hidrógeno formados entre el HO5' y algún átomo de la base nitrogenada, como el N3 de las purinas en orientación *syn*. Es importante destacar que estos enlaces no pueden formarse en la cadena del ADN, ya que en lugar del hidrógeno en O5', existe la unión con el grupo fosfato que forma el SPB. No obstante, estas interacciones pueden ocurrir en cristales de nucleósidos u otras estructuras de ácidos nucleicos. En las optimizaciones donde ocurren estos enlaces de hidrógeno, se observa un mínimo de energía más profundo, reflejando la energía favorable del puente de hidrógeno. En las tablas presentadas en estas secciones, dichos mínimos se indican con un asterisco en ΔE .

Tabla 4.1: Resultados obtenidos para desoxiadenosina (dA) con métodos de MM y MC.

Método	NtC	ΔE	χ	β	γ	δ	ϵ	P	Puckering
Promedio	BB00		258.0	180.0	44.0	138.0	183.0		
AMBER/BSC1	BB00	0	220.0	174.1	54.7	144.6	169.5	162.5	C2'-endo
CHARMM	BB00	0	227.4	175.1	49.0	139.8	165.7	168.2	C2'-endo
CHARMM-GB	BB00	0	225.5	173.8	48.7	139.7	164.7	167.8	C2'-endo
DFT/PBE	BB00	0	235.3	174.1	50.1	145.8	172.0	174.0	C2'-endo
MP2/6-31G	BB00	0	232.4	173.4	50.5	148.0	171.8	169.1	C2'-endo
MP2/pVTZ	BB00	0	234.2	178.3	51.0	145.7	174.1	168.0	C2'-endo
Promedio	AA00		200.0	173.0	55.0	82.0	206.0		
AMBER/BSC1	AA00	+1.43	204.9	178.1	55.5	84.4	182.6	9.3	C3'-endo
CHARMM	AA00	+0.19	195.3	177.7	54.0	85.5	167.8	9.2	C3'-endo
CHARMM-GB	AA00	-1.74	194.7	177.3	53.88	85.7	167.7	8.8	C3'-endo
DFT/PBE	AA00	+0.43	211.4	168.9	49.9	84.9	192.9	7.8	C3'-endo
MP2/6-31G	AA00	+0.29	193.1	175.1	52.8	81.3	190.5	7.5	C3'-endo
MP2/pVTZ	AA00	+0.01	195.8	179.9	52.8	81.1	193.5	8.8	C3'-endo
Promedio	BB02		253.0	195.0	277.0	150.0	194.0		
AMBER/BSC1	BB02	+1.36	200.3	187.2	300.5	150.7	183.2	160.6	C2'-endo
DFT/PBE	BB02	+2.62	207.3	182.3	292.0	148.1	176.4	163.8	C2'-endo
MP2/6-31G	BB02	+2.68	181.0	184.1	294.1	156.2	174.7	178.7	C2'-endo
AMBER/BSC1	AB1S	-4.32*	59.1	55.0	51.0	146.7	193.2	165.1	C2'-endo

Energía total y diferencia energética en [kcal/mol], ángulos en [°]. ΔE es la diferencia entre la energía obtenida en cada clase conformacional para cada método, tomando como referencia el valor para BB00.

En el caso de la purina presentada en la Tabla 4.1, se destaca que los resultados obtenidos con CHARMM exhiben una cercanía notable con los obtenidos mediante ambos métodos de MC. Esta similitud se extiende incluso a la mínima diferencia energética entre las clases conformacionales BB00 y AA00. Es importante mencionar que, para los campos de fuerzas AMBER, se evidencia una diferencia energética más pronunciada entre estas clases.

En los resultados de las optimizaciones con CHARMM considerando agua como solvente implícito, se manifiesta un cambio significativo en el comportamiento energético. Este escenario particular destaca, ya que es el único método donde el mínimo asociado con la clase conformacional AA00 resulta más favorable para este nucleósido.

Además, al realizar cálculos de MP2 utilizando el conjunto de bases *aug-cc-pVTZ*, los resultados muestran una semejanza con los cálculos obtenidos mediante MP2

utilizando el conjunto de bases $6-31G(d',p')$ menos extendido. Esto subraya la consistencia de los resultados obtenidos a través de los diferentes conjuntos de bases.

En la última fila se presenta un mínimo correspondiente a la orientación *syn* de la base, esta estructura muestra un enlace de hidrógeno (HO5'-N3) que no es posible en la cadena del ADN. Este enlace de hidrógeno hace su energía más favorable, se indica con * en ΔE .

Tabla 4.2: Resultados obtenidos para desoxiguanosina (dG) con métodos de MM y MC.

Método	NtC	ΔE	χ	β	γ	δ	ϵ	P	Puckering
Promedio	BB00		258.0	180.0	44.0	138.0	183.0		
AMBER/BSC1	BB00	0	224.2	170.9	53.7	144.6	174.8	162.7	C2'-endo
CHARMM	BB00	0	234.1	188.6	46.7	139.9	166.1	168.7	C2'-endo
CHARMM-GB	BB00	0	235.1	169.4	45.9	140.0	166.0	168.9	C2'-endo
DFT/PBE	BB00	0	238.1	171.0	49.2	146.0	173.4	173.9	C2'-endo
MP2/6-31G	BB00	0	234.8	170.9	49.5	148.3	172.9	169.6	C2'-endo
MP2/pVTZ	BB00	0	239.0	175.0	50.0	146.1	175.6	169.0	C2'-endo
Promedio	AA00		200.0	173.0	55.0	82.0	206.0		
AMBER/BSC1	AA00	+1.52	205.1	176.5	55.1	84.5	188.6	8.6	C3'-endo
CHARMM	AA00	+0.31	204.0	174.3	52.5	84.6	169.0	11.5	C3'-endo
CHARMM-GB	AA00	+1.23	204.9	172.8	51.8	84.9	169.9	11.3	C3'-endo
DFT/PBE	AA00	+0.75	212.9	165.6	48.9	85.1	195.6	8.7	C3'-endo
MP2/6-31G	AA00	+0.62	199.3	168.6	50.8	81.2	193.6	10.2	C3'-endo
MP2/pVTZ	AA00	+0.40	200.6	175.6	51.5	81.3	197.0	10.2	C3'-endo
Promedio	BB02		253.0	195.0	277.0	150.0	194.0		
AMBER/BSC1	BB02	+1.01	205.6	187.3	300.6	150.4	191.9	160.3	C2'-endo
DFT/PBE	BB02	+2.54	231.8	182.9	292.3	146.9	179.5	161.2	C2'-endo
MP2/6-31G	BB02	+2.89	193.3	184.6	293.8	154.1	176.7	171.7	C2'-endo
AMBER/BSC1	AB1S	-6.81*	57.3	47.8	55.1	145.5	189.3	162.4	C2'-endo
CHARMM	AB1S	-5.32*	56.9	51.1	50.7	138.3	171.1	159.2	C2'-endo
CHARMM-GB	AB1S	-23.65*	56.9	50.2	51.1	138.1	171.1	159.2	C2'-endo
DFT/PBE	AB1S	-7.84*	53.9	58.2	47.5	144.7	179.6	164.4	C2'-endo
AMBER/BSC1	BB1S	+1.51	67.3	189.3	300.1	155.1	200.5	170.9	C2'-endo
DFT/PBE	BB1S	+2.45	69.3	186.1	294.5	150.5	179.6	171.8	C2'-endo
MP2/6-31G	BB1S	+1.88	66.3	187.6	295.0	154.0	179.2	171.1	C2'-endo
AMBER/BSC1	ZZ1S	+7.66	78.1	192.1	184.9	80.4	173.7	36.8	C4'-exo
DFT/PBE	ZZ1S	+5.13	66.6	184.5	190.1	85.3	191.3	30.4	C3'-endo
MP2/6-31G	ZZ1S	+4.28	62.6	187.7	189.5	85.8	191.3	35.3	C3'-endo

Energía total y diferencia energética en [kcal/mol], ángulos en [°]. ΔE es la diferencia entre la energía obtenida en cada clase conformacional para cada método, tomando como referencia el valor para BB00.

En la Tabla 4.2, se aprecia nuevamente que los resultados obtenidos con CHARMM se aproximan a los obtenidos con métodos de MC, incluso para la optimización con agua como solvente implícito. Además, se observa que los mínimos obtenidos con el conjunto de bases *aug-cc-pVTZ* son bastante similares a los obtenidos con el conjunto de bases *6-31G(d',p')*.

En el caso de este nucleósido natural, se exploraron diversas conformaciones con orientación *syn* de la base. Específicamente, las conformaciones asociadas a la clase conformacional AB1S exhiben el enlace de hidrógeno HO5'-N3, lo que resulta en una energía más favorable. Por otro lado, las otras clases con orientación *syn* (BB1S y ZZ1S) no presentan dicho enlace, y desde el punto de vista energético, no están considerablemente distantes de las clases conformacionales más comunes.

En la Figura 4.2, se presentan las estructuras optimizadas de desoxiguanosina en la clase conformacional BB00 utilizando diversos métodos. Aunque se aprecian diferencias en los ángulos de torsión entre las optimizaciones con estos métodos, estas variaciones no son significativas ni fácilmente distinguibles, ya que los ángulos de torsión permanecen cercanos dentro de sus rangos característicos. En general, se puede afirmar que los ángulos de torsión experimentan cambios mínimos, independientemente del método utilizado.

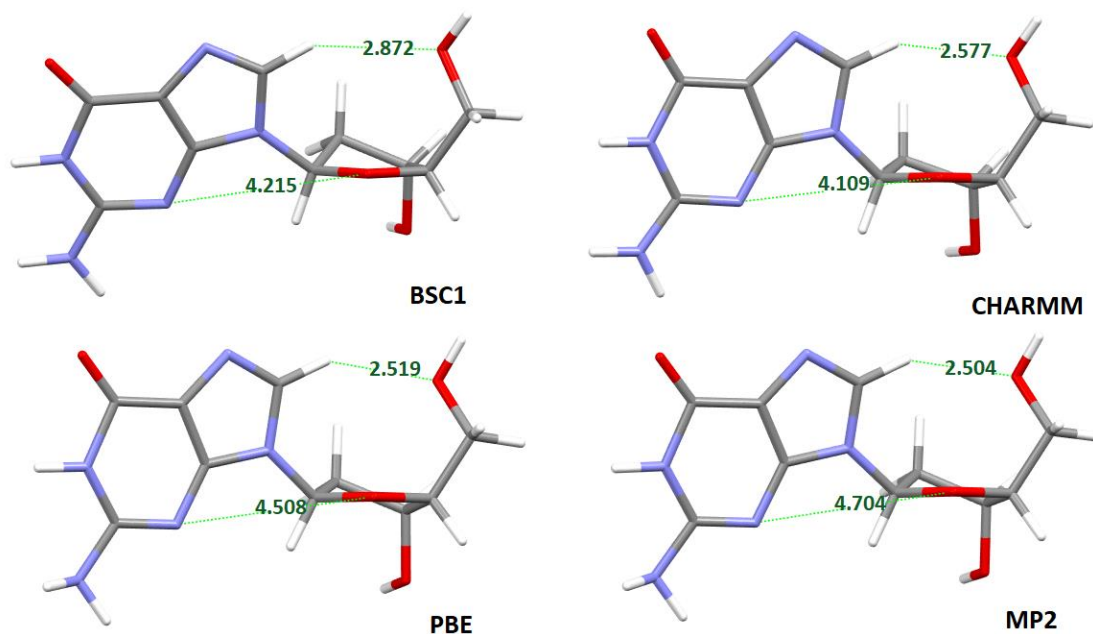


Figura 4.2 Estructuras del nucleósido desoxiguanosina optimizadas geométricamente con diferentes métodos (BSC1, CHARMM, PBE y MP2). Se indican las distancias O5'-H8 y O4'-N3 en Å.

Tabla 4.3: Resultados obtenidos para desoxitimidina (dT) con métodos de MM y MC.

Método	NtC	ΔE	χ	β	γ	δ	ϵ	P	Puckering
Promedio	BB00		258.0	180.0	44.0	138.0	183.0		
AMBER/BSC1	BB00	0	221.1	178.9	55.3	143.9	170.5	160.3	C2'-endo
BSC1-GB	BB00	0	229.9	180.3	56.7	143.8	183.4	160.6	C2'-endo
CHARMM	BB00	0	222.1	180.9	49.3	138.0	163.0	162.8	C2'-endo
CHARMM-GB	BB00	0	221.0	180.1	49.3	137.8	158.6	164.3	C2'-endo
DFT/PBE	BB00	0	232.5	174.8	50.8	143.8	172.4	167.1	C2'-endo
MP2/6-31G	BB00	0	232.7	173.6	50.2	146.0	171.8	163.1	C2'-endo
MP2/pVTZ	BB00	0	232.4	180.2	51.1	143.4	174.1	161.8	C2'-endo
ADF/PW91	BB00	0	227.8	180.1	51.8	139.9	175.9	163.1	C2'-endo
ADF/PBE-D	BB00	0	230.0	179.0	50.9	12.2	172.5	165.3	C2'-endo
Promedio	AA00		200.0	173.0	55.0	82.0	206.0		
AMBER/BSC1	AA00	+2.29	210.5	178.9	55.6	86.0	181.9	16.6	C3'-endo
BSC1-GB	AA00	+2.97	220.0	179.2	57.3	83.0	177.3	22.3	C3'-endo
CHARMM	AA00	-0.26	200.3	180.6	53.2	83.2	166.4	13.6	C3'-endo
CHARMM-GB	AA00	+0.08	200.0	180.2	53.0	83.3	165.9	13.5	C3'-endo
DFT/PBE	AA00	+0.54	201.1	174.2	55.2	83.3	190.9	11.6	C3'-endo
MP2/6-31G	AA00	+0.87	198.8	171.9	52.3	80.3	188.5	13.0	C3'-endo
MP2/pVTZ	AA00	+0.49	198.8	179.6	53.0	79.9	190.6	13.1	C3'-endo
ADF/PW91	AA00	+0.39	205.2	176.7	53.3	83.5	196.8	15.4	C3'-endo
ADF/PBE-D	AA00	+0.42	203.6	174.7	52.1	80.6	192.7	11.5	C3'-endo
Promedio	BB02		253.0	195.0	277.0	150.0	194.0		
AMBER/BSC1	BB02	+2.55	209.9	188.8	300.8	150.1	184.9	159.3	C2'-endo
BSC1-GB	BB02	+1.11	229.1	181.7	297.1	150.2	184.1	163.7	C2'-endo
CHARMM	BB02	+4.75	198.8	190.0	309.4	134.5	167.5	141.7	C1'-exo
CHARMM-GB	BB02	-1.17	197.6	191.4	312.2	133.1	167.2	139.0	C1'-exo
DFT/PBE	BB02	+3.02	196.1	181.9	292.2	148.4	174.7	166.2	C2'-endo
MP2/6-31G	BB02	+3.65	196.8	184.4	293.2	152.5	173.6	167.5	C2'-endo
ADF/PW91	BB02	+2.33	223.1	189.0	292.2	143.8	182.1	158.4	C2'-endo
ADF/PBE-D	BB02	+2.69	228.6	189.8	291.1	149.6	178.4	168.6	C2'-endo
AMBER/BSC1	AB1S	+0.80*	58.0	57.4	50.9	146.7	197.7	164.6	C2'-endo
AMBER/BSC1	NANT	+9.01	132.4	180.9	55.3	99.9	182.1	328.0	C2'-exo
AMBER/BSC1	NANT	+6.77*	59.8	20.1	54.0	94.4	208.0	34.8	C3'-endo

Energía total y diferencia energética en [kcal/mol], ángulos en [°]. ΔE es la diferencia entre la energía obtenida en cada clase conformacional para cada método, tomando como referencia el valor para BB00.

En la Tabla 3 previamente presentada, se observa que, aunque los resultados obtenidos con CHARMM se aproximan a los obtenidos con métodos de MC, hay un cambio en el perfil energético: los cálculos sin solvente con CHARMM favorecen la conformación AA00 para desoxitimidina, en contradicción con los demás métodos

donde la conformación BB00 es la más favorable, incluido CHARMM utilizando agua como solvente implícito.

Además, se destaca que el uso de conjunto de bases *aug-cc-pVTZ* produce resultados casi idénticos a los obtenidos con el conjunto de bases *6-31G(d',p')*. Y los resultados obtenidos considerando agua como solvente implícito con AMBER se acercan a lo encontrado sin considerar solvente.

Los resultados correspondientes a los diferentes funcionales de ADF son bastante similares a los resultados de PBE y MP2 para todas las clases conformacionales de desoxitimidina.

Asimismo, se incluyen conformaciones correspondientes a la orientación *syn* de la base en las últimas filas, donde se observan dos mínimos que presentan un enlace de hidrógeno entre HO5' y la base, mostrando una energía favorable. Cabe destacar que los dos últimos mínimos no corresponden a ninguna clase conformacional catalogada.

A continuación, se presentarán las trayectorias calculadas mediante DM para los nucleósidos de las pirimidinas naturales. El objetivo es analizar la evolución geométrica de cada pirimidina a lo largo de un tiempo establecido y las diferencias resultantes de iniciar la simulación desde la clase conformacional BB00 o desde AA00.

Los resultados fueron obtenidos a diferentes temperaturas cercanas a la temperatura ambiente (298K y 300K), con una duración total de 1 nanosegundo y un paso de 0.001ns. Se consideraron dos configuraciones iniciales: una sin solvente y la otra con agua como solvente implícito, usando el método GBIS.

En las figuras siguientes se ilustra el comportamiento de los tres ángulos de torsión más relevantes para la clasificación conformacional de los nucleósidos (χ , γ y δ) a lo largo de la trayectoria de DM para desoxitimidina.

En primer lugar, observamos los ángulos de torsión en las trayectorias de DM para la desoxitimidina. La simulación se llevó a cabo comenzando desde la estructura inicial correspondiente a la clase conformacional BB00, con una temperatura de 298K. Se realizaron dos escenarios: uno sin solvente (Figura 4.3) y otro considerando agua como solvente implícito (Figura 4.4).

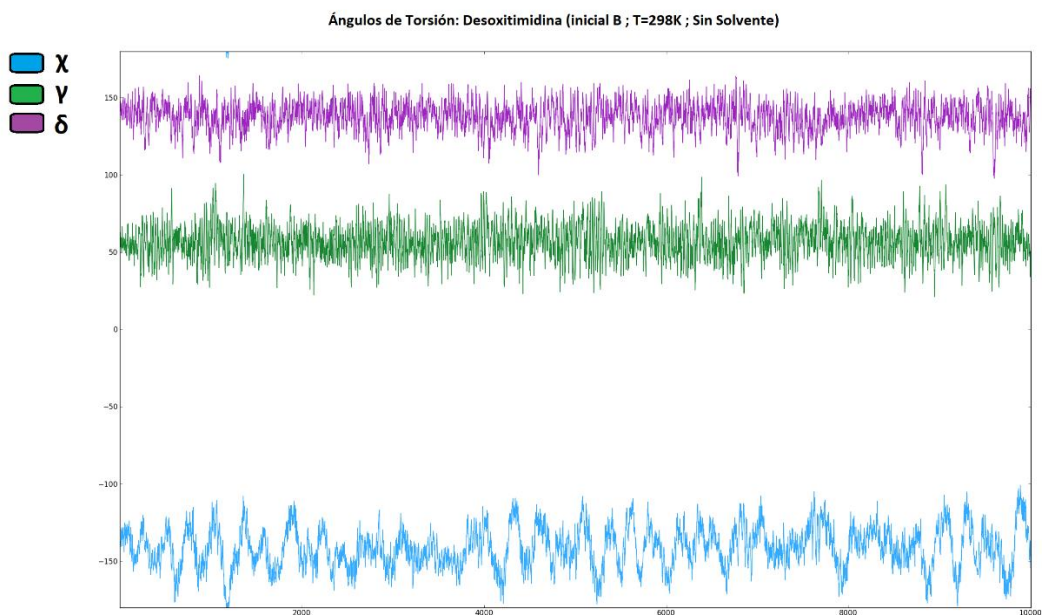


Figura 4.4: Ángulos de torsión en trayectoria de dinámica molecular tomando como estructura inicial el nucleósido desoxitimidina en conformación BB00, con temperatura de 298K y sin solvente.

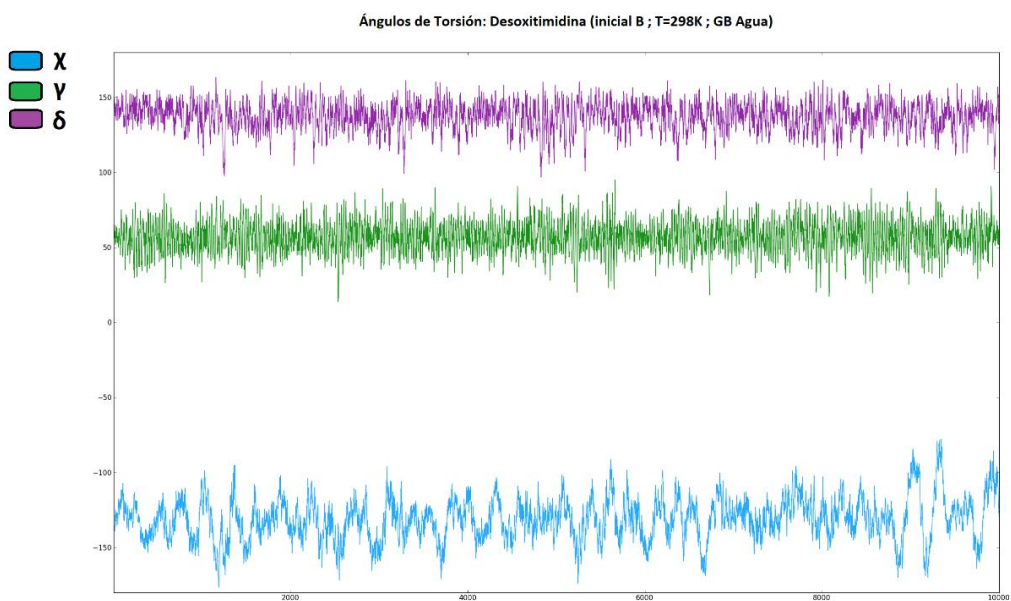


Figura 4.3: Ángulos de torsión en trayectoria de dinámica molecular tomando como estructura inicial el nucleósido desoxitimidina en conformación BB00, con temperatura de 298K y con agua como solvente implícito.

En la Figura 4.3, se aprecia que los ángulos de torsión γ y δ del azúcar permanecen en una región característica de la conformación de la familia B-ADN (*gauche+* para γ y *trans* para δ). Mientras tanto, el ángulo glucosídico χ oscila, con una amplitud relativamente mayor que los otros ángulos, entre valores correspondientes a la orientación *anti* de la base. Estos resultados sugieren que la molécula experimenta pequeños movimientos alrededor de su punto de equilibrio, que parece ser la conformación BB00.

Cuando se añade agua como solvente implícito (Figura 4.4), se observa que no hay cambios significativos en los ángulos de torsión de la molécula en comparación con la Figura 3. Los ángulos de torsión continúan ubicándose en las regiones correspondientes a la clase conformacional BB00, con una orientación *anti* de la base. Esto sugiere una estabilidad relativa de la conformación BB00 incluso en presencia de agua como solvente implícito.

A continuación, se presentan los ángulos de torsión en la trayectoria de DM que se inicia con una estructura de desoxitimidina correspondiente a la clase conformacional AA00, tanto sin solvente (Figura 4.5) como con agua como solvente implícito (Figura 4.6).

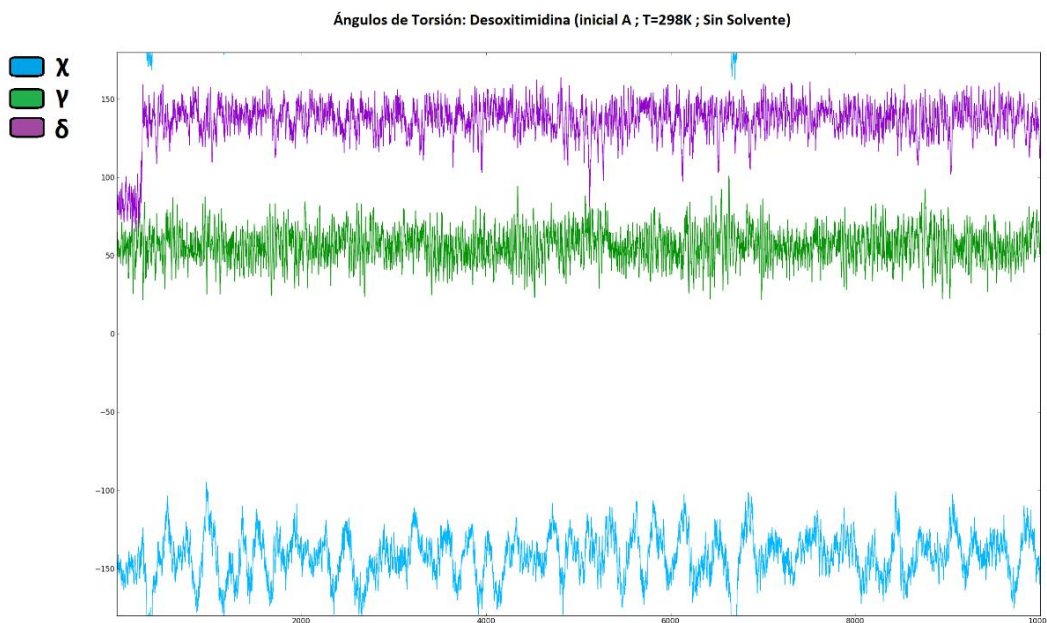


Figura 4.5: Ángulos de torsión en trayectoria de dinámica molecular tomando como estructura inicial el nucleósido desoxitimidina en conformación AA00, con temperatura de 298K y sin solvente.

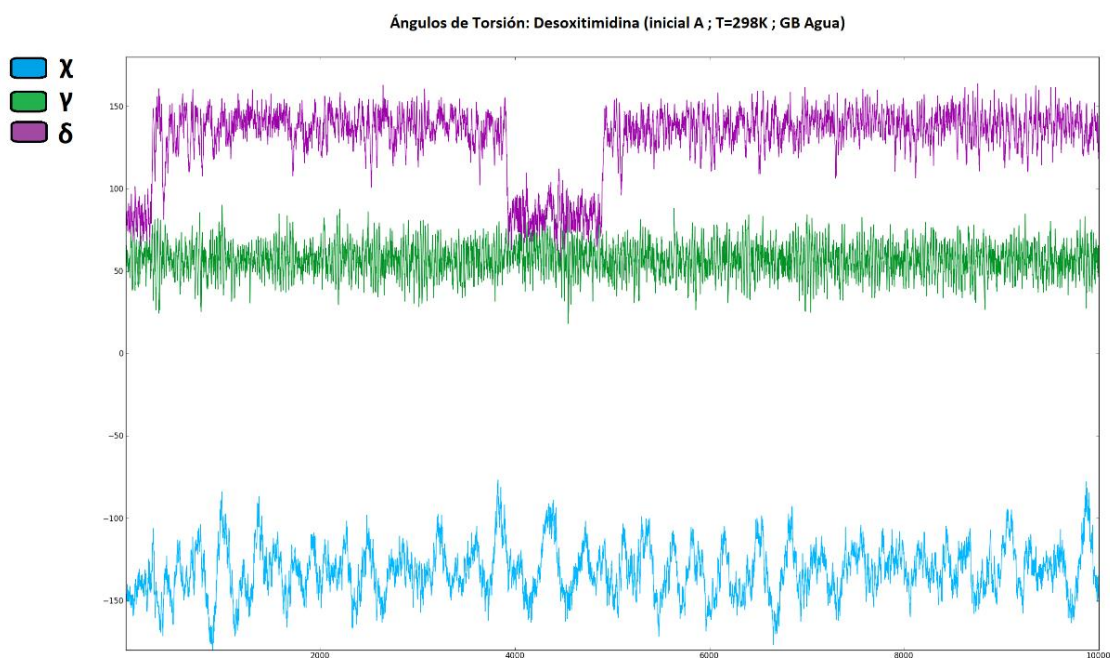


Figura 4.6: Ángulos de torsión en trayectoria de dinámica molecular tomando como estructura inicial el nucleósido desoxitimidina en conformación AA00, con temperatura de 298K y con agua como solvente implícito.

En la Figura 4.5, iniciando desde la conformación AA00, observamos que los ángulos de torsión (inicialmente en la región *gauge+* para γ y δ) cambian después de unos pocos pasos hacia regiones correspondientes a la clase conformacional BB00. Esto sugiere que, bajo estas condiciones, nuestra molécula experimenta un cambio dinámico de la familia A-ADN a B-ADN, manteniéndose posteriormente en esta última conformación.

Al incluir agua como solvente implícito (Figura 4.6), observamos un comportamiento similar, pero con un “salto” intermedio hacia AA00 antes de regresar nuevamente a BB00.

Para concluir el análisis de los nucleósidos naturales del ADN, se presentan los resultados obtenidos para la desoxicitidina. Exploraremos tanto las tablas que presentan las optimizaciones geométricas como las trayectorias de DM. Se usa este enfoque para obtener una comprensión integral de la estabilidad y las preferencias conformacionales de este nucleósido separado.

Tabla 4.4: Resultados obtenidos para desoxicitidina (dC) con métodos de MM y MC.

Método	NtC	ΔE	χ	β	γ	δ	ϵ	P	Puckering
Promedio	BB00		258.0	180.0	44.0	138.0	183.0		
AMBER/BSC1	BB00	0	215.4	179.7	55.8	143.1	156.9	158.9	C2'-endo
BSC1-GB	BB00	0	227.5	179.9	56.6	143.1	182.3	159.4	C2'-endo
CHARMM	BB00	0	208.9	180.4	51.9	138.5	160.4	165.5	C2'-endo
CHARMM-GB	BB00	0	207.3	180.2	52.1	138.2	158.6	164.3	C2'-endo
DFT/PBE	BB00	0	216.5	177.5	53.6	143.0	168.2	165.1	C2'-endo
MP2/6-31G	BB00	0	212.5	176.7	52.6	145.5	168.0	162.5	C2'-endo
MP2/pVTZ	BB00	0	204.1	181.8	53.3	143.2	168.5	162.2	C2'-endo
ADF/PW91	BB00	0	222.3	180.4	52.7	138.6	173.4	163.2	C2'-endo
ADF/PBE-D	BB00	0	223.6	179.0	51.8	141.6	169.4	166.1	C2'-endo
Promedio	AA00		200.0	173.0	55.0	82.0	206.0		
AMBER/BSC1	AA00	+1.79	205.4	181.0	55.9	82.7	174.6	15.4	C3'-endo
BSC1-GB	AA00	+2.82	217.7	179.2	57.4	82.2	176.7	22.7	C3'-endo
CHARMM	AA00	-0.64	195.1	180.9	54.4	83.8	165.6	11.5	C3'-endo
CHARMM-GB	AA00	-0.51	194.6	181.0	54.6	83.7	164.6	11.3	C3'-endo
DFT/PBE	AA00	-0.53	198.2	176.0	53.3	83.2	187.4	10.8	C3'-endo
MP2/6-31G	AA00	-0.49	195.3	174.7	53.4	80.2	185.6	12.0	C3'-endo
MP2/pVTZ	AA00	-0.80	194.1	181.6	54.0	79.7	187.0	11.4	C3'-endo
ADF/PW91	AA00	-0.58	200.0	178.0	53.7	82.2	194.1	13.0	C3'-endo
ADF/PBE-D	AA00	-0.70	197.4	176.0	53.3	79.5	191.3	10.3	C3'-endo
Promedio	BB02		253.0	195.0	277.0	150.0	194.0		
AMBER/BSC1	BB02	+2.11	201.5	187.3	300.3	150.0	168.2	159.3	C2'-endo
BSC1-GB	BB02	+0.94	225.7	181.6	297.0	149.8	182.9	163.1	C2'-endo
CHARMM	BB02	+4.08	190.0	188.9	305.8	138.6	164.2	151.3	C2'-endo
CHARMM-GB	BB02	+1.30	188.3	190.1	307.3	137.9	163.6	149.2	C2'-endo
DFT/PBE	BB02	+1.72	192.0	180.3	291.3	149.7	170.8	168.8	C2'-endo
MP2/6-31G	BB02	+2.13	190.4	188.9	305.8	138.6	164.2	151.3	C2'-endo
AMBER/BSC1	AB1S	+0.47*	59.4	58.1	49.2	147.0	195.1	167.7	C2'-endo
AMBER/BSC1	NANT	+5.92*	62.1	17.8	53.1	95.6	207.6	29.4	C3'-endo

Energía total y diferencia energética en [kcal/mol], ángulos en [°]. ΔE es la diferencia entre la energía obtenida en cada clase conformacional para cada método, tomando como referencia el valor para BB00.

En la Tabla 4.4, se observa nuevamente similitud entre los resultados obtenidos con los diferentes funcionales de ADF y los obtenidos con PBE y MP2. Tanto en términos de ángulos de torsión como de comportamiento energético, se evidencia coherencia, presentando el mínimo en la conformación AA00 como la configuración más favorable energéticamente, mientras que la conformación BB02 es la menos favorable. Este patrón se replica en los resultados obtenidos con CHARMM, donde los valores de los ángulos de torsión se acercan significativamente a los de MC. En este

caso, se observa también la preferencia hacia la conformación AA00 como la más favorable desde el punto de vista energético, en contraste con los campos de fuerzas AMBER, que favorecen a la clase BB00 en la desoxicitidina como en los otros tres nucleósidos naturales. Esta inclinación conformacional específica hacia AA00, evidenciada por los métodos de MC, es única para la desoxicitidina en el contexto de los nucleósidos naturales del ADN.

Además, se destaca la consistencia en los resultados de las optimizaciones con y sin agua como solvente implícito, tanto para el campo de fuerzas BSC1 como para CHARMM, manteniendo los comportamientos energéticos de las conformaciones BB00, AA00 y BB02 de sus respectivos métodos.

En la Figura 4.7, se muestran los resultados de las optimizaciones de desoxicitidina para las clases conformacionales BB00 y AA00, considerando agua como solvente implícito en AMBER/BSC1 y CHARMM. Por otro lado, en la Figura 4.8, se presentan las optimizaciones realizadas mediante el software ADF utilizando los funcionales PW91 y PBE-D para las mencionadas clases conformacionales de desoxicitidina. Recordemos que, en el contexto de AMBER, la familia BB00 emerge como energéticamente más favorable, mientras que, para los demás métodos, la conformación AA00 es la preferida desde el punto de vista energético.

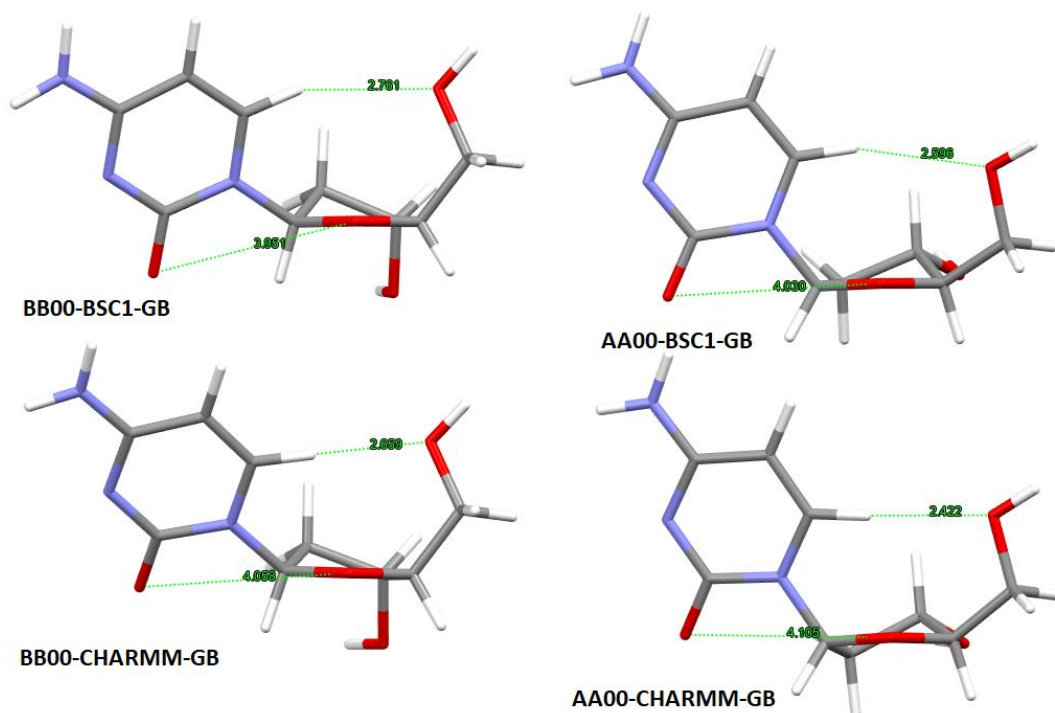


Figura 4.7: Resultados para desoxicitidina en las clases conformacionales BB00 (izquierda) y AA00 (derecha), obtenidos de optimizaciones considerando agua como solvente implícito en AMBER/BSC1 (arriba) y CHARMM (abajo). Se indican las distancias O5'-H6 y O4'-O2 en Å.

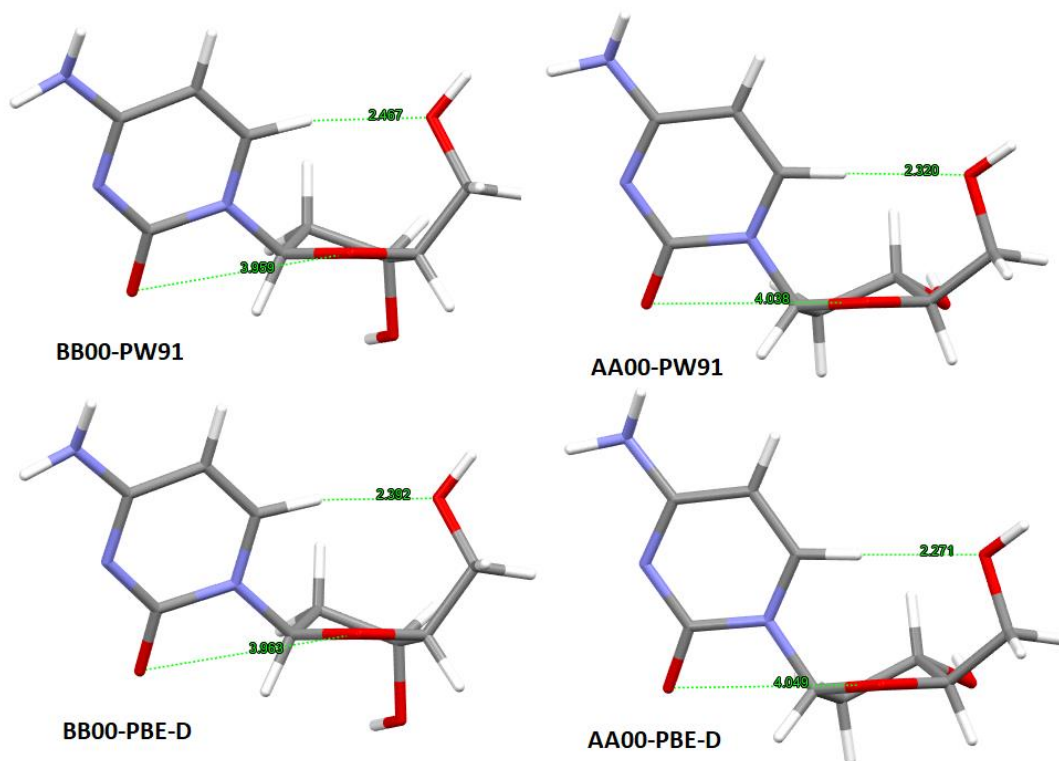


Figura 4.8: Resultados para desoxicitidina en las clases conformacionales BB00 (izquierda) y AA00 (derecha), obtenidos usando el software ADF con los funcionales PW91 (arriba) y PBE-D (abajo). Se indican las distancias O5'-H6 y O4'-O2 en Å.

Ahora, se presentan las trayectorias de DM para la desoxicitidina, utilizando los mismos parámetros que para la otra pirimidina. Las siguientes figuras corresponden a la evolución de los ángulos de torsión en la trayectoria que toma como inicial la conformación de desoxicitidina que correspondiente a la clase BB00 en las dos configuraciones iniciales: sin solvente (Figura 4.9) y con agua como solvente implícito (Figura 4.10).

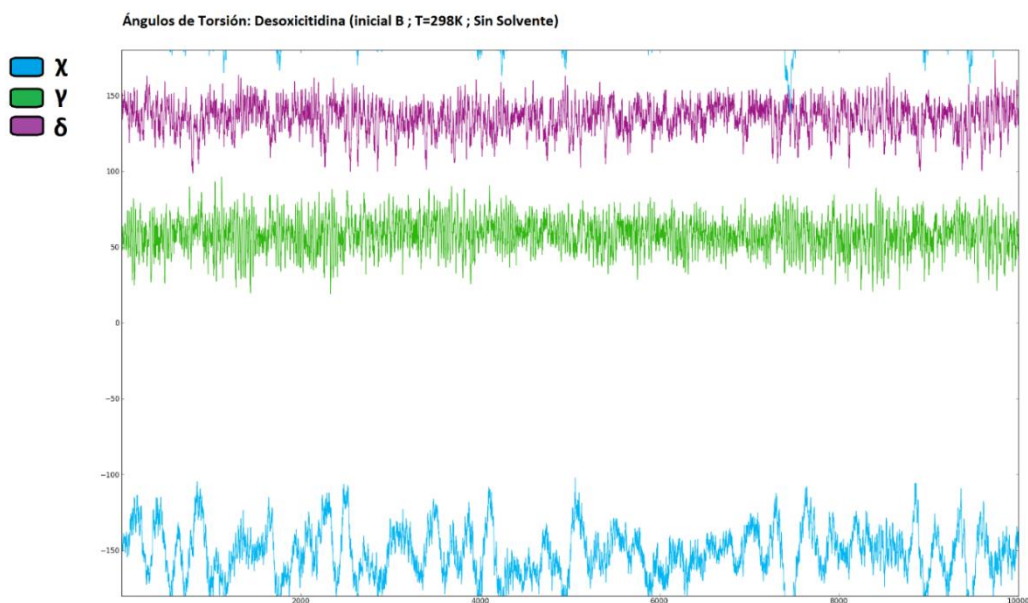


Figura 4.9: Ángulos de torsión en trayectoria de dinámica molecular tomando como estructura inicial el nucleósido desoxicitidina en conformación BB00, con temperatura de 298K y sin solvente.

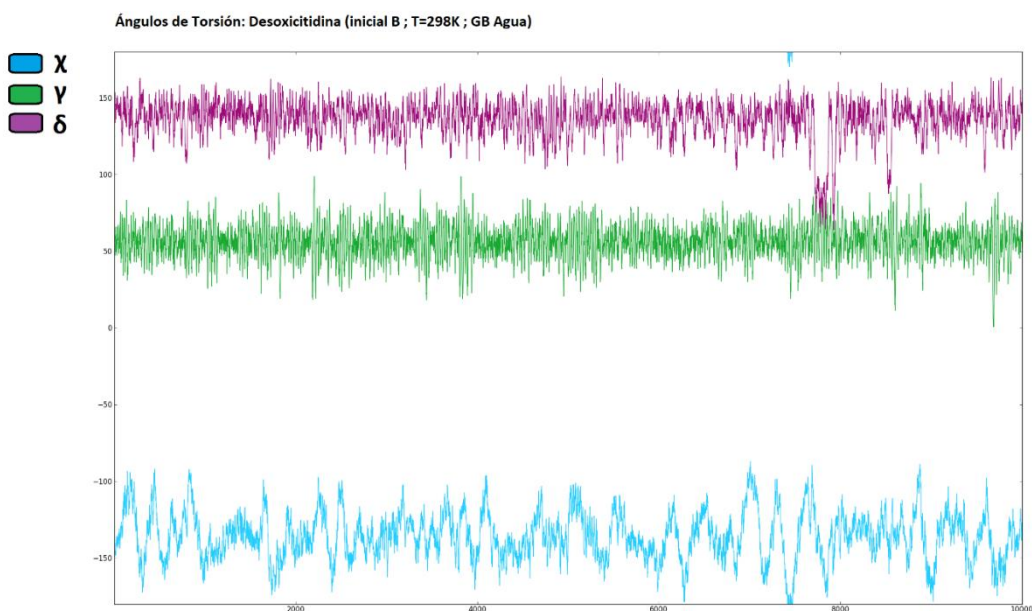


Figura 4.10: Ángulos de torsión en trayectoria de dinámica molecular tomando como estructura inicial el nucleósido desoxicitidina en conformación BB00, con temperatura de 298K y con agua como solvente implícito.

En la Figura 4.9, se aprecia que los ángulos de torsión γ y δ del azúcar se mantienen en una región correspondiente a la conformación de la familia B-ADN (gauge+ para γ y trans para δ). Mientras que el ángulo glucosídico χ oscila, con una amplitud notablemente mayor que los demás ángulos, entre valores característicos de la orientación *anti* de la base. Nuevamente, esto sugiere que la molécula exhibe pequeños movimientos alrededor de su punto de equilibrio, presuntamente la conformación BB00.

La adición de agua como solvente implícito no induce cambios significativos, como se observa al comparar la Figura 4.10 con la Figura 4.9. Los ángulos de torsión de la molécula continúan manteniéndose en las regiones correspondientes a la clase conformacional BB00, con una orientación *anti* de la base.

En la Figura 4.11, donde partimos de desoxicitidina en conformación AA00, podemos ver que los ángulos de torsión (inicialmente en la región gauge+ para γ y δ) cambian después de unos pocos pasos a regiones que corresponden a la clase conformacional BB00. Esto nos indica que, bajo estas condiciones, nuestra molécula en dinámica molecular cambia de la familia A a la familia B, manteniéndose después en esta última conformación.

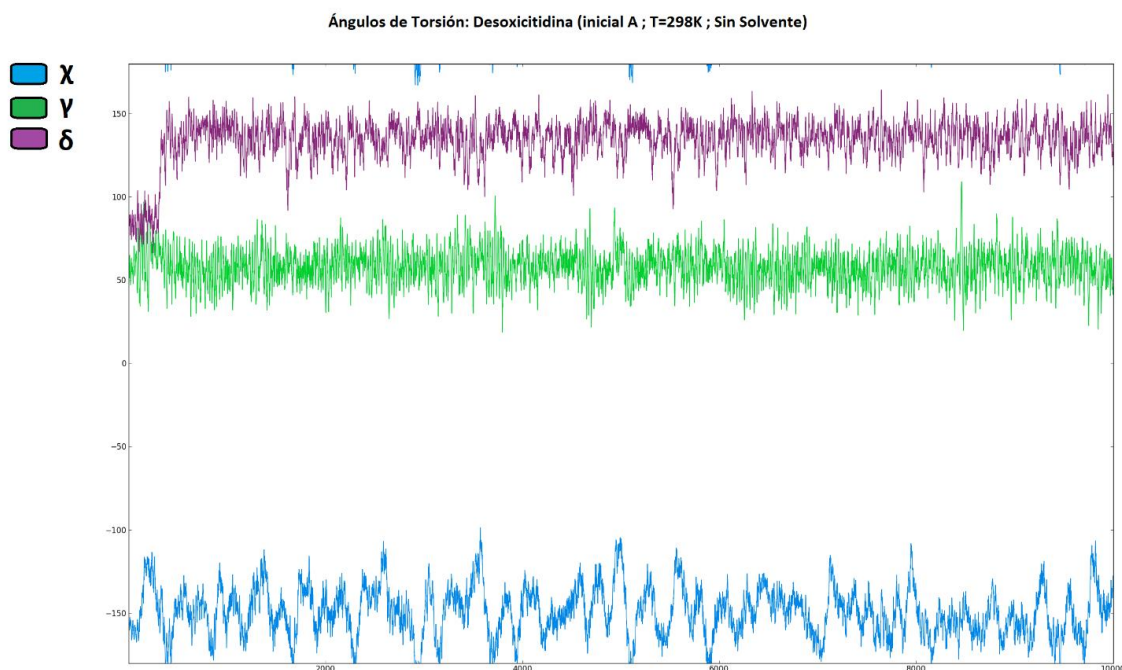


Figura 4.11: Ángulos de torsión en trayectoria de dinámica molecular tomando como estructura inicial el nucleósido desoxicitidina en conformación BB00, con temperatura de 298K y sin solvente.

En la Figura 4.12, al considerar agua como solvente implícito, observamos un patrón similar al de desoxitimidina (Figura 4.6). Los ángulos de torsión, inicialmente en una región correspondiente a la clase AA00, experimentan un cambio hacia la clase BB00 en los primeros pasos. A medida que progresa la trayectoria, se produce un “salto” hacia la clase AA00 en pasos intermedios para luego regresar nuevamente a BB00, donde la molécula mantiene su conformación.

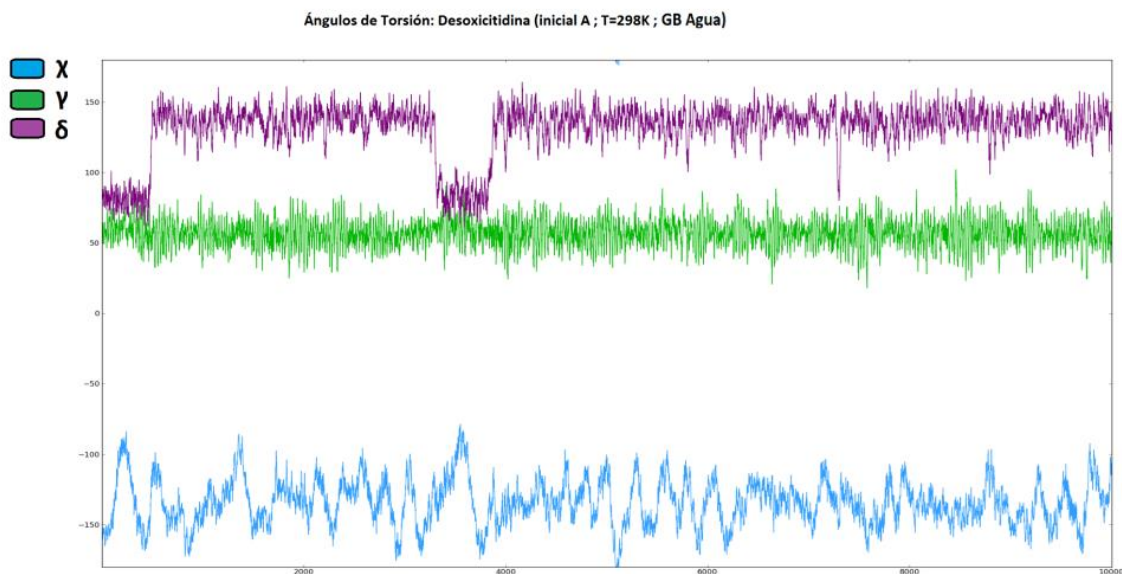


Figura 4.12: Ángulos de torsión en trayectoria de dinámica molecular tomando como estructura inicial el nucleósido desoxicitidina en conformación BB00, con temperatura de 298K y con agua como solvente implícito.

4.2 Nucleósidos con bases modificadas

Los cálculos empleando diversos métodos para nucleósidos con bases modificadas son fundamentales para comprender las contribuciones de las características que experimentan cambios en la molécula. Asimismo, resultan esenciales para comprender la influencia de estas modificaciones en la estructura fina y en el funcionamiento del ADN.

A continuación, se presentan las tablas con los resultados obtenidos para distintas modificaciones en las bases nitrogenadas de las pirimidinas naturales (Figura 2.2), utilizando MM (campo de fuerzas AMBER/BSC1) y MC (DFT/PBE y MP2). La Figura 4.13, ilustra las modificaciones consideradas para pirimidinas, proporcionando una visión detallada de los cambios estructurales evaluados.

Tabla 4.5: Resultados obtenidos para desoxiuridina (dU) con métodos de MM y MC.

Método	NtC	ΔE	χ	β	γ	δ	ε	P	Puckering
Promedio	BB00		258.0	180.0	44.0	138.0	183.0		
AMBER/BSC1	BB00	0	219.7	177.0	51.6	140.0	179.3	154.5	C2'-endo
DFT/PBE	BB00	0	231.1	175.1	51.5	143.8	172.9	167.3	C2'-endo
MP2/6-31G	BB00	0	232.1	173.7	50.4	146.1	172.2	163.2	C2'-endo
Promedio	AA00		200.0	173.0	55.0	82.0	206.0		
AMBER/BSC1	AA00	+1.50	212.0	178.4	53.7	86.2	186.2	19.1	C3'-endo
DFT/PBE	AA00	+0.39	201.2	173.3	52.6	83.9	191.0	11.3	C3'-endo
MP2/6-31G	AA00	+0.82	198.3	171.6	52.6	80.5	188.7	12.9	C3'-endo
Promedio	BB02		253.0	195.0	277.0	150.0	194.0		
AMBER/BSC1	BB02	+3.83	208.3	188.3	300.2	143.6	190.5	149.3	C2'-endo
DFT/PBE	BB02	+3.02	194.0	182.1	292.0	149.8	175.0	169.1	C2'-endo
MP2/6-31G	BB02	+3.59	194.3	184.8	293.3	152.9	173.7	168.8	C2'-endo

Energía total y diferencia energética en [kcal/mol], ángulos en [°]. ΔE es la diferencia entre la energía obtenida en cada clase conformacional para cada método, tomando como referencia el valor para BB00.

El nucleósido de uracilo (desoxiuridina), detallado en la Tabla 4.5, exhibe un comportamiento similar al de la desoxitimidina con respecto a estos métodos (Tabla 4.3). En este caso, la clase conformacional BB00 se posiciona como la más favorable energéticamente, seguida de la clase AA00 y, finalmente, la clase BB02. Aunque con MC la diferencia energética entre BB00 y AA00 es más reducida, BB00 continúa siendo la preferida, coincidiendo con la tendencia observada en el caso de la desoxitimidina.

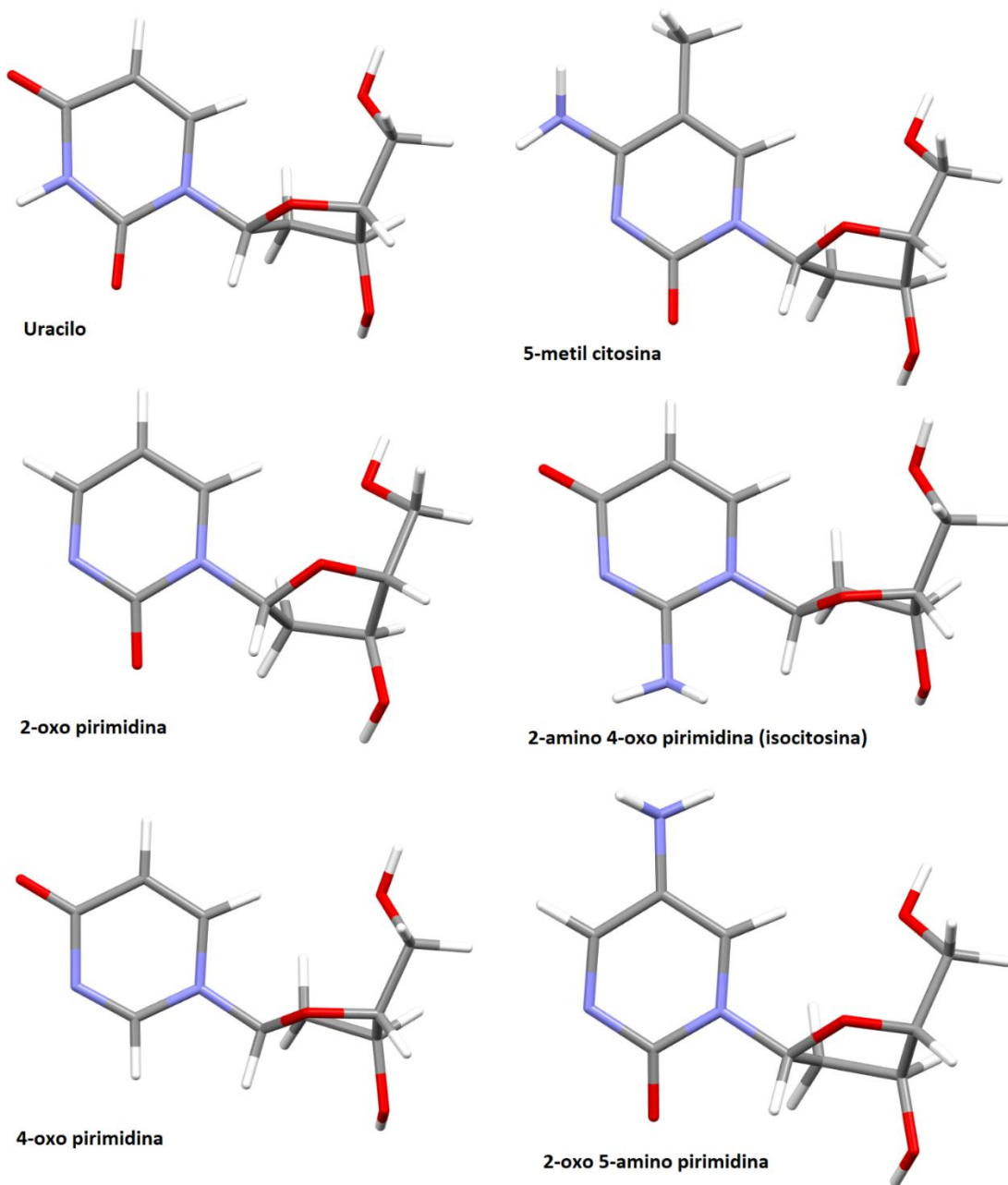


Figura 4.13: Nucleósidos modificados considerados para pirimidinas: Desoxiudirina (dU), nucleósido de 5-metil citosina, nucleósido de 2-oxo pirimidina, nucleósido de 2-amino 4-oxo pirimidina, nucleósido de 4-oxo pirimidina y nucleósido de 2-oxo 5-amino pirimidina. De izquierda a derecha y de arriba a abajo. Todas en conformación BB00 optimizadas con MP2.

Tabla 4.6: Resultados obtenidos para el desoxinucleósido de 5-metil citosina con métodos de MM y MC.

Método	NtC	ΔE	χ	β	γ	δ	ϵ	P	Puckering
Promedio	BB00		258.0	180.0	44.0	138.0	183.0		
AMBER/BSC1	BB00	0	217.4	180.1	52.7	137.9	169.4	152.3	C2'-endo
DFT/PBE	BB00	0	220.8	177.6	52.8	142.7	168.5	164.6	C2'-endo
MP2/6-31G	BB00	0	215.4	176.6	52.3	145.2	168.1	162.0	C2'-endo
Promedio	AA00		200.0	173.0	55.0	82.0	206.0		
AMBER/BSC1	AA00	+0.36	209.0	181.4	53.6	85.1	179.1	17.1	C3'-endo
DFT/PBE	AA00	-0.53	196.6	177.9	53.9	82.6	187.3	10.3	C3'-endo
MP2/6-31G	AA00	-0.55	195.2	176.0	53.4	79.9	185.2	6.9	C3'-endo
Promedio	BB02		253.0	195.0	277.0	150.0	194.0		
AMBER/BSC1	BB02	+3.76	203.7	187.6	299.1	143.2	176.8	149.2	C2'-endo
DFT/PBE	BB02	+1.72	167.7	180.4	291.4	148.5	170.6	166.4	C2'-endo
MP2/6-31G	BB02	+2.16	190.6	182.5	292.8	154.2	169.9	173.3	C2'-endo

Energía total y diferencia energética en [kcal/mol], ángulos en [°]. ΔE es la diferencia entre la energía obtenida en cada clase conformacional para cada método, tomando como referencia el valor para BB00.

En el caso del nucleósido de 5-metilcitosina, expuesto en la Tabla 4.6, observamos un comportamiento energético similar al de la desoxicitosina, destacándose la misma discrepancia entre MM/AMBER y MC. Según las optimizaciones obtenidas con AMBER, la clase conformacional BB00 prevalece como la más favorable, mientras que, con métodos de MC, la preferencia recae en la clase conformacional AA00.

Tabla 4.7: Resultados obtenidos para el desoxinucleósido de 2-oxo pirimidina con métodos de MC.

Método	NtC	ΔE	χ	β	γ	δ	ϵ	P	Puckering
Promedio	BB00		258.0	180.0	44.0	138.0	183.0		
DFT/PBE	BB00	0	205.3	179.5	55.0	143.6	165.8	168.3	C2'-endo
MP2/6-31G	BB00	0	203.8	178.2	54.0	146.6	167.9	165.7	C2'-endo
Promedio	AA00		200.0	173.0	55.0	82.0	206.0		
DFT/PBE	AA00	-0.65	196.7	176.9	54.1	83.7	189.0	10.1	C3'-endo
MP2/6-31G	AA00	-0.52	195.2	174.4	53.6	80.6	186.5	12.2	C3'-endo
Promedio	BB02		253.0	195.0	277.0	150.0	194.0		
DFT/PBE	BB02	+1.92	191.6	182.7	292.4	150.7	172.7	171.7	C2'-endo
MP2/6-31G	BB02	+2.26	190.4	183.7	293.2	154.5	171.6	174.0	C2'-endo

Energía total y diferencia energética en [kcal/mol], ángulos en [°]. ΔE es la diferencia entre la energía obtenida en cada clase conformacional para cada método, tomando como referencia el valor para BB00.

Para el nucleósido de 2-oxopirimidina (citosina sin el grupo amino), presentado en la Tabla 4.7, observamos una vez más el mismo patrón energético que en la desoxicitosina para MC. La clase conformacional AA00 destaca como la más favorable en este contexto.

Tabla 4.8: Resultados obtenidos para el desoxinucleósido de 2-amino 4-oxo pirimidina (isocitosina) con métodos de MC.

Método	NtC	ΔE	χ	β	γ	δ	ϵ	P	Puckering
Promedio	BB00		258.0	180.0	44.0	138.0	183.0		
DFT/PBE	BB00	0	246.3	171.4	48.6	145.7	175.2	169.0	C2'-endo
MP2/6-31G	BB00	0	245.6	171.1	48.5	147.8	174.4	165.5	C2'-endo
Promedio	AA00		200.0	173.0	55.0	82.0	206.0		
DFT/PBE	AA00	+1.14	207.4	167.1	50.1	84.2	198.7	13.6	C3'-endo
MP2/6-31G	AA00	+2.03	195.4	170.3	51.8	80.3	192.2	16.2	C3'-endo
Promedio	BB02		253.0	195.0	277.0	150.0	194.0		
DFT/PBE	BB02	+1.13	291.0	183.4	293.6	144.9	183.1	153.9	C2'-endo
MP2/6-31G	BB02	+2.24	290.4	184.6	293.8	147.0	183.0	152.9	C2'-endo

Energía total y diferencia energética en [kcal/mol], ángulos en [°]. ΔE es la diferencia entre la energía obtenida en cada clase conformacional para cada método, tomando como referencia el valor para BB00.

En el caso del nucleósido de 2-amino-4-oxopirimidina (isocitosina), presentado en la Tabla 4.8, se evidencia un comportamiento energético distinto al de la desoxicitosina. En este caso, al igual que en otros nucleósidos naturales, la clase conformacional BB00 destaca como la más favorable. Además, se observa una mínima diferencia energética entre la clase AA00 y la clase BB02.

Tabla 4.9: Resultados obtenidos para el desoxinucleósido de 4-oxo pirimidina con métodos de MC.

Método	NtC	ΔE	χ	β	γ	δ	ϵ	P	Puckering
Promedio	BB00		258.0	180.0	44.0	138.0	183.0		
DFT/PBE	BB00	0	237.1	173.3	49.7	145.0	176.9	168.8	C2'-endo
MP2/6-31G	BB00	0	237.1	172.4	49.2	147.2	176.1	165.1	C2'-endo
Promedio	AA00		200.0	173.0	55.0	82.0	206.0		
DFT/PBE	AA00	+1.57	217.7	164.7	49.5	86.3	196.5	15.4	C3'-endo
MP2/6-31G	AA00	+2.16	214.8	161.0	49.8	83.5	194.6	18.3	C3'-endo

Energía total y diferencia energética en [kcal/mol], ángulos en [°]. ΔE es la diferencia entre la energía obtenida en cada clase conformacional para cada método, tomando como referencia el valor para BB00.

Para el nucleósido de 4-oxopirimidina (resultado de la desaminación del nucleósido anterior), como se muestra en la Tabla 4.9, se repite el mismo patrón observado en el caso anterior. La clase conformacional BB00 se destaca nuevamente como la más favorable desde el punto de vista energético.

Tabla 4.10: Resultados obtenidos para el desoxinucleósido de 4-oxo pirimidina con métodos de MC.

Método	NtC	ΔE	χ	β	γ	δ	ε	P	Puckering
Promedio	BB00		258.0	180.0	44.0	138.0	183.0		
DFT/PBE	BB00	0	208.6	181.6	54.8	143.1	167.7	165.5	C2'-endo
MP2/6-31G	BB00	0	208.1	180.6	53.9	145.6	167.9	162.9	C2'-endo
Promedio	AA00		200.0	173.0	55.0	82.0	206.0		
DFT/PBE	AA00	-0.71	197.2	183.5	54.8	82.6	187.9	11.2	C3'-endo
MP2/6-31G	AA00	-0.71	195.4	182.0	54.5	79.9	185.7	12.3	C3'-endo

Energía total y diferencia energética en [kcal/mol], ángulos en [°]. ΔE es la diferencia entre la energía obtenida en cada clase conformacional para cada método, tomando como referencia el valor para BB00.

Finalmente, para el nucleósido de 2-oxo-5-aminopirimidina (citosina con el grupo amino en la posición 5 en lugar de la posición 4), como se muestra en la Tabla 4.10, se evidencia un comportamiento energético similar al de desoxicitidina. La clase conformacional AA00 se destaca como la más favorable para los métodos de MC.

Al analizar los resultados de los desoxinucleósidos con bases modificadas, se observa una tendencia en la cual la clase conformacional AA00 es energéticamente más favorable para aquellas que presentan un oxígeno en la posición 2, a excepción de la desoxiuridina, que exhibe un hidrógeno unido a N3. Estas dos características particulares pueden influir significativamente en esta preferencia conformacional. Para los demás nucleósidos modificados, la clase más favorable sigue siendo la BB00.

En las siguientes tablas se presentan los resultados correspondientes a diferentes modificaciones en las purinas naturales (Figura 2.2), obtenidos mediante métodos de MC (DFT/PBE y MP2). En particular, se estudiaron los nucleósidos de 8-oxoguanina, 8-oxoadenina y de hipoxantina (inosina), cuyas estructuras podemos observar en la Figura 4.14.

La 8-oxoguanina es una forma modificada de la guanina que se forma cuando la guanina en el ADN sufre daño debido a especies reactivas de oxígeno, como los radicales libres. A su vez, la 8-oxoadenina se forma cuando la adenina en el ADN sufre daño oxidativo en el carbono 8. La inosina no se encuentra directamente en el ADN, sin embargo, puede estar presente en el ARN durante la síntesis de proteínas,

formándose cuando la adenina sufre una desaminación espontánea, convirtiéndose en hipoxantina, que puede ser posteriormente reconocida y emparejada con citosina durante la transcripción.

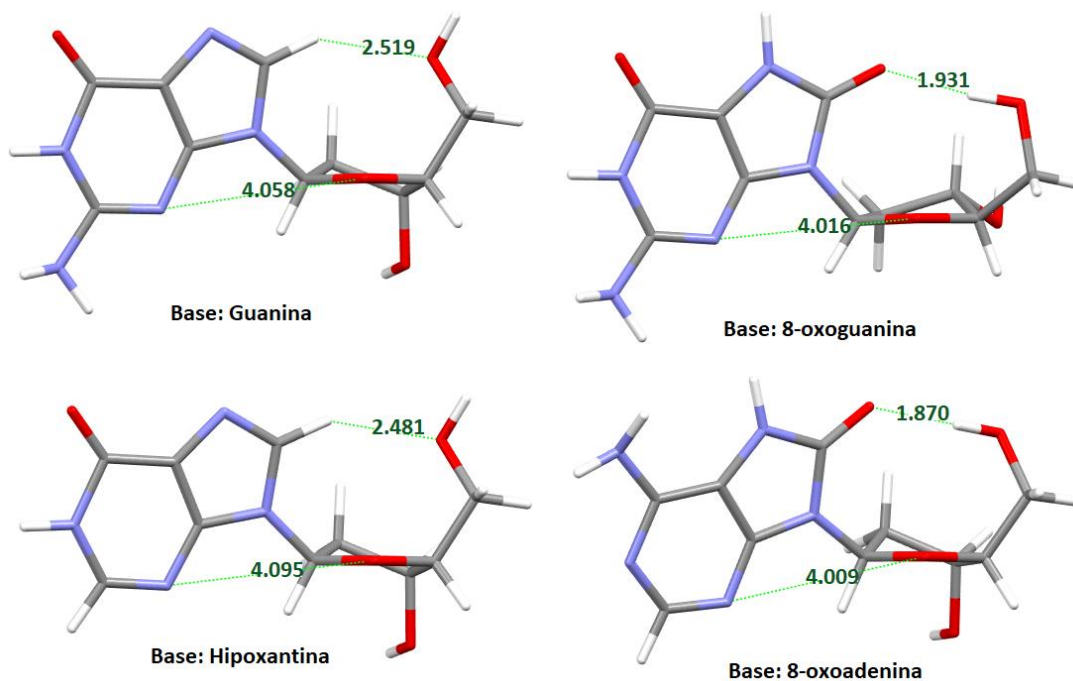


Figura 4.14: Desoxiguanosina y nucleósidos modificados considerados para purinas: 8-oxoguanosina, 8-oxoadenosina e inosina (nucleósido de hipoxantina). De izquierda a derecha y de arriba a abajo. Todas en conformación BB00 optimizadas con PBE. Se indican las distancias O5'-H8 y O4'-N3 en Å.

Tabla 4.11: Resultados obtenidos para el desoxinucleósido de 8-oxo guanina (8-oxo guanosina) con métodos de MM y MC.

Método	NtC	ΔE	χ	β	γ	δ	ϵ	P	Puckering
AMBER/BSC1	BB00	0*	231.7	61.4	53.4	148.0	187.2	165.4	C2'-endo
DFT/PBE	BB00	0*	245.6	64.7	45.3	145.9	178.4	165.5	C2'-endo
AMBER/BSC1	AA00	+4.90*	222.3	34.1	50.1	88.1	200.3	18.4	C3'-endo
DFT/PBE	AA00	+9.28	285.4	182.7	55.8	93.5	198.2	347.7	C2'-exo
AMBER/BSC1	BB02	+8.21	239.7	182.0	298.8	154.9	195.7	170.2	C2'-endo
DFT/PBE	BB02	+7.21	258.2	174.1	293.7	152.5	178.8	180.4	C2'-endo
AMBER/BSC1	AB1S	-1.43*	46.7	49.3	58.8	147.0	177.8	160.6	C2'-endo
DFT/PBE	AB1S	-1.90*	51.9	53.6	48.6	142.9	176.1	162.2	C2'-endo
AMBER/BSC1	BB1S	+8.31	53.1	190.6	300.0	152.5	185.1	163.5	C2'-endo
DFT/PBE	BB1S	+8.79	63.2	186.9	294.1	148.8	176.5	167.9	C2'-endo
AMBER/BSC1	ZZ1S	+13.48	46.4	190.9	184.3	85.0	162.9	19.5	C3'-endo
DFT/PBE	NANT	+9.34	58.0	172.2	50.0	81.0	194.8	35.3	C3'-endo

Energía total y diferencia energética en [kcal/mol], ángulos en [°]. ΔE es la diferencia entre la energía obtenida en cada clase conformacional para cada método, tomando como referencia el valor para BB00.

En el caso de 8-oxoguanosina, Tabla 4.11, se observan varias optimizaciones que muestran enlaces de hidrógeno entre HO5' y átomos específicos en la base, particularmente, N3 para la orientación *syn* y O8 para la orientación *anti*. Este último enlace se puede ver ilustrado en la Figura 4.14 para 8-oxoguanosina. Es importante recordar que esta orientación, representada por el valor del ángulo β , no es posible en toda la cadena del ADN. Las estructuras que presentan estos enlaces de hidrógeno tienden a tener una energía más favorable, lo que resulta en una diferencia energética más pronunciada en comparación con los mínimos sin enlaces de hidrógeno. Estos mínimos corresponden a la clase conformacional BB00 (para la orientación *anti*) con ambos métodos, AA00 (sólo para AMBER) y AB1S (para la orientación *syn*) con ambos métodos.

Tabla 4.12: Resultados obtenidos para el desoxinucleósido de 8-oxo adenina (8-oxoadenosina) con métodos de MC.

Método	NtC	ΔE	χ	β	γ	δ	ϵ	P	Puckering
DFT/PBE	BB00	0*	242.6	64.3	46.0	145.5	177.2	164.7	C2'-endo
MP2/6-31G	BB00	0*	244.0	64.3	47.0	146.7	176.8	159.0	C2'-endo
DFT/PBE	AA00	+2.28*	240.3	42.6	44.3	89.0	207.3	30.2	C3'-endo
MP2/6-31G	AA00	+7.02	297.9	181.7	57.4	101.7	192.8	328.0	C2'-exo
DFT/PBE	BB02	+7.21	255.1	175.2	292.9	151.2	178.1	177.1	C2'-endo
MP2/6-31G	BB02	+6.45	255.6	177.6	293.9	155.1	176.7	175.2	C2'-endo
DFT/PBE	AB1S	-1.05*	53.1	65.4	46.2	146.0	176.5	165.1	C2'-endo
MP2/6-31G	AB1S	-1.33*	52.8	64.0	46.9	146.4	176.7	158.3	C2'-endo
DFT/PBE	BB1S	+7.31	65.5	177.5	293.4	150.4	177.4	172.7	C2'-endo
MP2/6-31G	BB1S	+6.05	61.0	179.1	293.4	153.6	176.4	170.9	C2'-endo

Energía total y diferencia energética en [kcal/mol], ángulos en [°]. ΔE es la diferencia entre la energía obtenida en cada clase conformacional para cada método, tomando como referencia el valor para BB00.

Para 8-oxoadenosina, según se muestra en la Tabla 4.12, los resultados son similares a los de la purina anterior. Se identifican conformaciones que muestran un enlace de hidrógeno entre HO5' y la base: en orientación *anti* de la base tenemos BB00 para ambos métodos y AA00 para DFT/PBE; mientras que para orientación *syn* de la base AB1S. Estas conformaciones presentan una menor energía, debido al enlace de hidrógeno.

Tabla 4.13: Resultados obtenidos para el desoxinucleósido de 8-oxo adenina (8-oxoadenosina) con métodos de MC.

Método	NtC	ΔE	χ	β	γ	δ	ϵ	P	Puckering
DFT/PBE	BB00	0	236.0	173.3	49.6	146.2	173.6	174.9	C2'-endo
MP2/6-31G	BB00	0	223.4	171.9	49.8	148.3	173.0	169.6	C2'-endo
DFT/PBE	AA00	+0.53	213.4	166.9	49.2	85.7	195.6	8.3	C3'-endo
MP2/6-31G	AA00	+0.53	199.2	169.8	51.1	81.4	193.4	10.1	C3'-endo
DFT/PBE	BB02	+2.79	210.6	183.2	292.5	148.5	178.6	167.5	C2'-endo
MP2/6-31G	BB02	+2.92	187.5	185.1	294.3	155.5	176.1	176.1	C2'-endo
DFT/PBE	AB1S	-6.71*	56.1	64.6	46.6	146.0	180.3	163.5	C2'-endo
MP2/6-31G	AB1S	-5.59*	56.1	63.8	46.9	146.6	180.1	157.6	C2'-endo
DFT/PBE	BB1S	+2.26	68.6	180.9	294.1	150.7	181.2	171.3	C2'-endo
MP2/6-31G	BB1S	+1.77	65.6	182.3	294.2	154.1	180.3	170.6	C2'-endo

Energía total y diferencia energética en [kcal/mol], ángulos en [°]. ΔE es la diferencia entre la energía obtenida en cada clase conformacional para cada método, tomando como referencia el valor para BB00.

En el caso del nucleósido de hipoxantina (inosina), como se presenta en la Tabla 4.13, se observa que solo existe una conformación que presenta un enlace de hidrógeno entre HO5' y N3 para ambos métodos (clase conformacional AB1S). Esta conformación particular representa el mínimo de energía más bajo para este nucleósido. Dado que en la hipoxantina no hay un oxígeno en la posición 8, no se forma un enlace de hidrógeno entre el azúcar y la base para la orientación *anti*. La presencia de este enlace de hidrógeno contribuye a la estabilidad estructural y, por ende, a la menor energía observada en esta conformación específica.

Capítulo 5. Conclusiones

Empleando dos tipos de campos de fuerzas de MM, AMBER y CHARMM; así como métodos de MC, DFT y ab initio a nivel MP2, se obtuvieron varios mínimos locales de energía para nucleósidos separados naturales y modificados. Estos mínimos corresponden a diferentes clases conformacionales de fragmentos mínimos de la cadena del ADN.

Aunque los resultados cualitativos no exhiben dependencia del método de cálculo, se identificaron divergencias en ciertas conclusiones importantes para la evaluación de la contribución de las posibilidades conformacionales a la estructura espacial y funciones del ADN.

Todos los mínimos locales para nucleósidos de pirimidinas corresponden a posiciones mutuas *anti* entre la base y el azúcar, y a las clases conformacionales AA00, BB00 y BB02. En el caso de los nucleósidos de purinas, los mínimos locales corresponden a ambas orientaciones (*anti* y *syn*), y algunos de estos mínimos contienen enlaces de hidrógeno entre la base y el C5'-fin del azúcar, que no corresponden a la estructura de cadena del ADN, pero que se han encontrado experimentalmente en cristales de nucleósidos.

Los resultados preliminares de los estudios con el programa AMBER indican que, para los cuatro nucleósidos naturales del ADN, el mínimo más favorable sin enlaces de hidrógeno corresponde a la clase conformacional BB00. Sin embargo, los cálculos con métodos de MC resultan en que, para la desoxicitidina, el mínimo más favorable corresponde a la clase conformacional AA00, en contraste con los otros nucleósidos naturales. Los cálculos que incorporan agua como solvente implícito, utilizando ambos campos de fuerzas, arrojaron resultados similares a aquellos realizados sin solvente. El uso de otros funcionales en el método DFT (implementados en el programa ADF) y de un conjunto de bases más extendido en el método de MP2 (*aug-cc-pvTz* en lugar de *6-31G(d',p')*) mostraron similitudes. Además, el empleo del campo de fuerzas CHARMM resultó en un mínimo más favorable correspondiente a la clase conformacional AA00 para ambos nucleósidos de pirimidinas.

Estos resultados señalan que ambos campos de fuerzas de MM considerados no se ajustan adecuadamente para reproducir los resultados para desoxinucleósidos

separados (como en el caso de otros fragmentos simples del ADN), y para conclusiones finales, los métodos de MC son necesarios.

Los cálculos utilizando métodos de MC para los desoxinucleósidos de pirimidinas modificadas, revelaron que aquellas bases con un grupo oxo en la segunda posición del anillo y con el átomo N3 con un enlace doble, como en la desoxicitidina natural, tienen como mínimo más profundo el correspondiente a la clase conformacional AA00. La falta de alguna de estas características condujo a la preferencia energética por el mínimo correspondiente a la clase conformacional BB00. Estos resultados son cruciales para evaluar las contribuciones de las interacciones en el ADN a la estructura y funciones de sus fragmentos, que contienen secuencias diferentes de nucleótidos naturales y modificados.

Referencias

1. Watson, James D. (1968) *The Double Helix: A Personal Account of the Discovery of the Structure of DNA*. Athenaeum, New York
2. Watson JD, Crick FHC (1953) Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid. *Nature* 171:737–738. <https://doi.org/10.1038/171737a0>
3. Wang J, Wolf RM, Caldwell JW, Kollman PA, Case DA (2004) Development and testing of a general amber force field. *J Comput Chem* 25:1157–1174. <https://doi.org/10.1002/jcc.20035>
4. Case, D. A., Aktulga, H. M., Belfon, K., Ben-Shalom, I. Y., Brozell, S. R., Cerutti, D. S., Cheatham, T. E. III., Cisneros, G. A., Cruzeiro, V. W. D., Darden, T. A., Duke, R. E., Giambasu, G., Gilson, M. K., Gholke, H., Goetz, A. W., Harris, R., Izadi, S., Izmailov, S. A., Jin, C., Liu, J., Luchko, T., Luo, R., Machado, M., Man, V., Manathuga, M., Merz, K. M., Miao, Y., Mikhailovskii, O., Monard, G., Nguyen, H., O’Hearn, K. A., Onufriev, A., Pan, F., Pantano, S., Qi, R., Ranhamoun, A., Roe, D. R., Roitberg, A., Sagui, C., Schott-Verdugo, S., Shen, J., Simmerling, C. L., Skrynnikov, N. R., Smith, J., Swails, J., Walker, R.C., Wang, J., Wei, H., Wolf, R. M., Wu, X., Xue, Y., York, D. M., Zhao, S., Kollman, P. A. (2021) *Amber 2021*. University of California, San Francisco
5. Brooks BR, Brooks CL, Mackerell AD, Nilsson L, Petrella RJ, Roux B, Won Y, Archontis G, Bartels C, Boresch S, Caflisch A, Caves L, Cui Q, Dinner AR, Feig M, Fischer S, Gao J, Hodoseck M, Im W, Kuczera K, Lazaridis T, Ma J, Ovchinnikov V, Paci E, Pastor RW, Post CB, Pu JZ, Schaefer M, Tidor B, Venable RM, Woodcock HL, Wu X, Yang W, York DM, Karplus M (2009) CHARMM: The biomolecular simulation program. *J Comput Chem* 30:1545–1614. <https://doi.org/10.1002/jcc.21287>
6. Perdew JP, Burke K, Ernzerhof M (1996) Generalized Gradient Approximation Made Simple. *Phys Rev Lett* 77:3865–3868. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.77.3865>
7. Møller Chr, Plesset MS (1934) Note on an Approximation Treatment for Many-Electron Systems. *Phys Rev* 46:618–622. <https://doi.org/10.1103/PhysRev.46.618>
8. Černý J, Božíková P, Svoboda J, Schneider B (2020) A unified dinucleotide alphabet describing both RNA and DNA structures. *Nucleic Acids Res* 48:6367–6381. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa383>

-
9. Poltev V, Anisimov VM, Dominguez V, Ruiz A, Deriabina A, Gonzalez E, Garcia D, Rivas F (2021) Understanding the Origin of Structural Diversity of DNA Double Helix. *Computation* 9:.
<https://doi.org/10.3390/computation9090098>
 10. Friederich Miescher (1871) Über die chemische Zusammensetzung der Eiterzellen. August Hirschwald, Berlin
 11. Siegfried R (2002) From elements to atoms: a history of chemical composition. American Philosophical Society, Philadelphia
 12. Pauling Linus, Niemann Carl (1939) The Structure of Proteins. *J Am Chem Soc* 61:1860–1867. <https://doi.org/10.1021/ja01876a065>
 13. Hubbard R (1997) The politics of women's biology, 3. paperback print. Rutgers Univ. Press, New Brunswick, N.J.
 14. Elson D, Chargaff E (1952) On the desoxyribonucleic acid content of sea urchin gametes. *Experientia* 8:143–145. <https://doi.org/10.1007/BF02170221>
 15. Poltev V (2017) Molecular Mechanics: Principles, History, and Current Status. In: *Handbook of Computational Chemistry*. pp 21–67
 16. Hendrickson JB (1961) Molecular Geometry. I. Machine Computation of the Common Rings. *J Am Chem Soc* 83:4537–4547.
<https://doi.org/10.1021/ja01483a011>
 17. Hendrickson JB (1962) **Molecular Geometry. II. Methyl-cyclohexanes and Cycloheptanes.** *J Am Chem Soc* 84:3355–3359.
<https://doi.org/10.1021/ja00876a024>
 18. Hendrickson JB, Boeckman RK, Glickson JD, Grunwald Ernest (1973) Molecular geometry. VIII. Proton magnetic resonance studies of cycloheptane conformations. *J Am Chem Soc* 95:494–505.
<https://doi.org/10.1021/ja00783a032>
 19. Allinger NL, Tribble MT (1971) Conformational analysis. LXXVIII. The conformation of phenylcyclohexane, and related molecules. *Tetrahedron Lett* 12:3259–3262. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(01\)97150-3](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(01)97150-3)
 20. Allinger NL, Sprague JT (1973) Conformational analysis. XC. Calculation of the structures of hydrocarbons containing delocalized electronic systems by the molecular mechanics method. *J Am Chem Soc* 95:3893–3907.
<https://doi.org/10.1021/ja00793a012>
-

-
21. Weiner PK, Kollman PA (1981) AMBER : Assisted model building with energy refinement. A general program for modeling molecules and their interactions. *J Comput Chem* 2:287–303. <https://doi.org/10.1002/jcc.540020311>
 22. Weiner SJ, Kollman PA, Case DA, Singh UC, Ghio C, Alagona G, Profeta S, Weiner P (1984) A new force field for molecular mechanical simulation of nucleic acids and proteins. *J Am Chem Soc* 106:765–784. <https://doi.org/10.1021/ja00315a051>
 23. Cornell WD, Cieplak P, Bayly CI, Gould IR, Merz KM, Ferguson DM, Spellmeyer DC, Fox T, Caldwell JW, Kollman PA (1995) A Second Generation Force Field for the Simulation of Proteins, Nucleic Acids, and Organic Molecules. *J Am Chem Soc* 117:5179–5197. <https://doi.org/10.1021/ja00124a002>
 24. Hohenberg P, Kohn W (1964) Inhomogeneous Electron Gas. *Phys Rev* 136:B864–B871. <https://doi.org/10.1103/PhysRev.136.B864>
 25. Kohn W, Sham LJ (1965) Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects. *Phys Rev* 140:A1133–A1138. <https://doi.org/10.1103/PhysRev.140.A1133>
 26. Parr RG, Yang W (1994) Density-functional theory of atoms and molecules, 1. iss. as ... paperback. Oxford Univ. Press [u.a.], New York, NY
 27. Hoeser M (1993) Moller-Plesset (MP2) perturbation theory for large molecules. *Theor Chim Acta* 87:147–173. <https://doi.org/10.1007/BF01113535>
 28. Kohn W (1999) Nobel Lecture: Electronic structure of matter—wave functions and density functionals. *Rev Mod Phys* 71:1253–1266. <https://doi.org/10.1103/RevModPhys.71.1253>
 29. Sinden, R. R. (1994) DNA Structure and Function, 1st Edition. Academic Press
 30. Altona C, Sundaralingam M (1972) Conformational analysis of the sugar ring in nucleosides and nucleotides. New description using the concept of pseudorotation. *J Am Chem Soc* 94:8205–8212. <https://doi.org/10.1021/ja00778a043>
 31. Poltev V, Anisimov VM, Danilov VI, Garcia D, Sanchez C, Deriabina A, Gonzalez E, Rivas F, Polteva N (2014) The role of molecular structure of sugar-phosphate backbone and nucleic acid bases in the formation of single-stranded and double-stranded DNA structures. *Biopolymers* 101:640–650. <https://doi.org/10.1002/bip.22432>
 32. Saenger, Wolfram (1984) Principles of Nucleic Acid Structure, 1st ed. Springer New York, New York
-

-
33. Schneider B, Neidle S, Berman HM (1997) Conformations of the sugar-phosphate backbone in helical DNA crystal structures. *Biopolymers* 42:113–124. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0282\(199707\)42:1<113::AID-BIP10>3.0.CO;2-O](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0282(199707)42:1<113::AID-BIP10>3.0.CO;2-O)
 34. Svozil D, Kalina J, Omelka M, Schneider B (2008) DNA conformations and their sequence preferences. *Nucleic Acids Res* 36:3690–3706. <https://doi.org/10.1093/nar/gkn260>
 35. Berman HM, Westbrook J, Feng Z, Gilliland G, Bhat TN, Weissig H, Shindyalov IN, Bourne PE (2000) The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Res* 28:235–242. <https://doi.org/10.1093/nar/28.1.235>
 36. Coimbatore Narayanan B, Westbrook J, Ghosh S, Petrov AI, Sweeney B, Zirbel CL, Leontis NB, Berman HM (2014) The Nucleic Acid Database: new features and capabilities. *Nucleic Acids Res* 42:D114–D122. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt980>
 37. Groom CR, Bruno IJ, Lightfoot MP, Ward SC (2016) The Cambridge Structural Database. *Acta Crystallogr Sect B* 72:171–179. <https://doi.org/10.1107/S2052520616003954>
 38. Macrae CF, Sovago I, Cottrell SJ, Galek PTA, McCabe P, Pidcock E, Platings M, Shields GP, Stevens JS, Towler M, Wood PA (2020) *Mercury 4.0*: from visualization to analysis, design and prediction. *J Appl Crystallogr* 53:226–235. <https://doi.org/10.1107/S1600576719014092>
 39. Poltev V (2012) Molecular Mechanics: Method and Applications. In: Leszczynski J (ed) *Handbook of Computational Chemistry*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp 259–291
 40. Poltev V (2017) Molecular Mechanics: Principles, History, and Current Status. In: Leszczynski J, Kaczmarek-Kedziera A, Puzyn T, G. Papadopoulos M, Reis H, K. Shukla M (eds) *Handbook of Computational Chemistry*. Springer International Publishing, Cham, pp 21–67
 41. Teller, E., Sahlin, H. (1971) *Physical Chemistry An Advanced Treatise*. Academic Press, New York
 42. McQuarrie DA (Donald A (1976) *Statistical mechanics*, 1st ed. Harper & Row, New York
 43. Poltev V, Deriabina A, Dominguez V, Sanchez C, Gonzalez E, Polteva NA (2019) Some Problems of Computer Simulation of Non-Bonded Interactions in DNA. *Biophysics* 64:170–181. <https://doi.org/10.1134/S0006350919020131>
-

-
44. Frisch, M. J., Trucks, G. W., Schlegel, H. B., Scuseria, G. E., Robb, M. A., Cheeseman, J. R., Scalmani, G., Barone, V., Mennucci, B., Petersson, G. A., et al (2016) Gaussian-16. Gaussian Inc, Wallingford, CT, USA
 45. Ivani I, Dans PD, Noy A, Pérez A, Faustino I, Hospital A, Walther J, Andrio P, Goñi R, Balaceanu A, Portella G, Battistini F, Gelpí JL, González C, Vendruscolo M, Laughton CA, Harris SA, Case DA, Orozco M (2016) Parmbsc1: a refined force field for DNA simulations. *Nat Methods* 13:55–58. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3658>
 46. Galindo-Murillo R, Robertson JC, Zgarbová M, Šponer J, Otyepka M, Jurečka P, Cheatham TE (2016) Assessing the Current State of Amber Force Field Modifications for DNA. *J Chem Theory Comput* 12:4114–4127. <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.6b00186>
 47. Wang J, Cieplak P, Kollman PA (2000) How well does a restrained electrostatic potential (RESP) model perform in calculating conformational energies of organic and biological molecules? *J Comput Chem* 21:1049–1074. [https://doi.org/10.1002/1096-987X\(200009\)21:12<1049::AID-JCC3>3.0.CO;2-F](https://doi.org/10.1002/1096-987X(200009)21:12<1049::AID-JCC3>3.0.CO;2-F)
 48. Pettersen EF, Goddard TD, Huang CC, Couch GS, Greenblatt DM, Meng EC, Ferrin TE (2004) UCSF Chimera—A visualization system for exploratory research and analysis. *J Comput Chem* 25:1605–1612. <https://doi.org/10.1002/jcc.20084>
 49. Roux B, Simonson T (1999) Implicit solvent models. *Biophys Chem* 78:1–20. [https://doi.org/10.1016/S0301-4622\(98\)00226-9](https://doi.org/10.1016/S0301-4622(98)00226-9)
 50. Hartree DR (1928) The Wave Mechanics of an Atom with a Non-Coulomb Central Field. Part I. Theory and Methods. *Math Proc Camb Philos Soc* 24:89–110. <https://doi.org/10.1017/S0305004100011919>
 51. te Velde G, Bickelhaupt FM, Baerends EJ, Fonseca Guerra C, van Gisbergen SJA, Snijders JG, Ziegler T (2001) Chemistry with ADF. *J Comput Chem* 22:931–967. <https://doi.org/10.1002/jcc.1056>
 52. G. A. Zhurko and D. A. Zhurko ChemCraft, Tool for Treatment of the Chemical Data
-