



Búsqueda de las posibles configuraciones de dímeros de moléculas de teobromina y teofilina por método de Mecánica Molecular

Que para obtener el título de
Licenciada En Física Aplicada

Presenta
Sánchez Gutiérrez María Patricia

Directores de tesis
Dr. Eduardo Gonzáles Jiménez
Dra. Alexandra Deriabina

Facultad de Ciencias Físico Matemáticas
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

PUEBLA, PUE.

Junio 2016

Dedicatoria

Agradecimientos

Texto

Resumen

Los derivados metilados de la xantina: la cafeína, teobromina y teofilina son estimulantes leves del sistema nervioso central y se consumen ampliamente a través del té, café y chocolate. Sus propiedades bioactivas son muchas y variadas. Una de las características más importante de estas moléculas es que son parecidas a las bases de los ácidos nucleicos. En este trabajo empleamos los métodos de Mecánica Molecular para realizar la búsqueda y caracterización de las estructuras de mínima energía de los dímeros de moléculas de teofilina y teobromina.

Los resultados obtenidos exponen algunas de las características más importantes de los dímeros encontrados en este trabajo, como lo son la energía de interacción, el tipo de interacción (interacción stacking o por enlace de hidrogeno), el vector momento dipolar, el traslape entre moléculas, entre otras. Estos resultados fueron comparados con algunos otros resultados obtenidos mediante métodos experimentales y teóricos de la Mecánica Cuántica.

Introducción

La Biofísica computacional está compuesta de dos grandes áreas basadas en principios físicos distintos. Por una parte, la Mecánica Molecular (MM) basada en la mecánica clásica, considerando a los átomos como partículas puntuales (dotadas de carga) interaccionando unos con otros mediante enlaces que se asemejan a resortes. Por otra parte, tenemos los métodos de estructura electrónica (MEE) que se basan en la aplicación de la Mecánica Cuántica a los sistemas moleculares. Ambos métodos permiten calcular un conjunto básico de propiedades moleculares, siendo la más importante la energía del sistema, correspondiente a un determinado arreglo de átomos (conformación de una molécula) así como las frecuencias vibracionales, el vector momento dipolar, etc.

Actualmente estos métodos se han desarrollado a tal grado que la exactitud de los resultados son comparables con los datos experimentales. En este trabajo estudiamos haciendo uso de la Mecánica Molecular, dos moléculas con actividad biológica y de amplio consumo, dichas moléculas pertenecen a la familia de las xantinas.

Los derivados metilados de la xantina son un grupo de alcaloides usados comúnmente por sus efectos estimulantes leves sobre el Sistema Nervioso Central y en diversos sistemas como el cardiovascular, muscular, etc. Las metilxantinas naturales son la cafeína, teofilina y teobromina.

La teobromina (3,7-dimetilxantina) extraída principalmente del cacao y la teofilina (1,3- dimetilxantina) extraída especialmente del Té, sólo difieren por la ubicación de sus radicales metil y la pérdida de uno de éstos con respecto a la cafeína (1,3,7- trimetilxantina). Estas tienen una misma estructura heterocíclica condensada de dos anillos, compartidas por carbonos y enlaces dobles conjugados, que a su vez les dan, junto con las bases de los ácidos nucleicos (DNA y RNA), propiedades aromáticas.

Sin embargo, hasta la fecha el mecanismo molecular de la acción de estos compuestos bastante simples se ha investigado poco, siendo el efecto principal de la cafeína y las dos metilxantinas que estudiaremos, la estimulación del sistema nervioso central y periférico.

El blanco principal de la acción de estas moléculas en concentraciones fisiológicamente significativas, son los receptores de adenosina [1].

Algunas manifestaciones de la actividad biológica de la cafeína, teofilina y teobromina se relacionan con su capacidad de formar complejos con los biopolímeros [2]. En solución la cafeína, no solo existe en forma de moléculas individualmente hidratadas sino también como asociados de moléculas. Por eso la investigación de la auto asociación de la teofilina y teobromina en fase gaseosa o acuosa es una primera etapa para el estudio de los mecanismos físicos de la interacción de las xantinas con biopolímeros. Como parte de un programa de investigación sobre los mecanismos moleculares de la acción biológica de dichos compuestos, en este trabajo se investigara la estructura y las características energéticas de los dímeros formados con teobromina y teofilina.

El objetivo de esta tesis es la búsqueda y caracterización de las estructuras de mínima energía de los dímeros de moléculas de teofilina y teobromina, con métodos de Mecánica Molecular y comparación con resultados experimentales y teóricos de Mecánica Cuántica. El trabajo de tesis consta de cuatro capítulos, cada uno de estos capítulos cumple con un objetivo en el desarrollo de este trabajo.

En el capítulo I se habla de manera general acerca de las moléculas de teofilina y teobromina, se muestra su estructura molecular y farmacología, esto con la finalidad de hacer hincapié en la importancia de trabajar con estas moléculas. En el capítulo II se habla de las interacciones no enlazantes que se tienen en las xantinas: las interacciones por enlace de hidrogeno y las interacciones de apilamiento (stacking). Las bases teóricas que dan sustento a nuestro trabajo se encuentran en el capítulo II y III, puesto que en el capítulo III se habla sobre algunos métodos computacionales usados en la actualidad para calcular un conjunto básico de propiedades moleculares, como lo son la Mecánica Molecular basada en la Mecánica clásica y el Método de estructura electrónica (MEE) basado en la Mecánica Cuántica; Por último en el capítulo IV se exponen los resultados obtenidos, se hace una breve discusión y se comparan con algunos resultados experimentales y teóricos para dar paso así a las conclusiones.

Índice general

Resumen	I
Introducción	II
1. Función, Estructura y Propiedades de las Metilxantinas	1
1.1. Estructura de las Metilxantinas	3
1.1.1. Propiedades farmacológicas	5
1.2. Cafeína	6
1.2.1. Farmacología de la cafeína	7
1.3. Teofilina	8
1.3.1. Farmacología de la teofilina	8
1.4. Teobromina	8
1.4.1. Farmacología de la teobromina	9
1.5. Bebidas con Xantinas	9
2. Interacciones no enlazantes en biomoléculas	11
2.1. Enlace de hidrogeno	12
2.2. Características geométricas y energéticas del enlace del enlace de hidrógeno	15
2.2.1. Parámetros geométricos	15
2.2.2. Parámetros energéticos	17
2.3. El agua y los enlaces de hidrogeno	20
2.4. El enlace de hidrogeno en biomoleculas	23
2.4.1. Enlaces de hidrogeno en Proteínas	23
2.4.2. Enlaces de hidrogeno en ADN	24
2.5. Interacciones de Apilamiento $\pi - \pi$ (Stacking)	25
2.5.1. Moléculas aromáticas	29
2.5.2. Interacción $\pi - \pi$ en ADN	32

3. Simulación Computacional de Biomoléculas	35
3.1. Formalismo Mecánico Cuántico para las moléculas	38
3.2. Mecánica Molecular	41
3.3. Componentes de la energía potencial en un Campo de Fuerzas	42
3.3.1. Potencial de tensión o estiramiento del enlace	44
3.3.2. Potencial de curvatura o flexión	45
3.3.3. Potencial de torsión	45
3.3.4. Interacciones no-enlazantes	46
3.3.5. Potencial de van der Waals	47
3.3.6. Potencial electrostático	48
3.3.7. Enlace de Hidrogeno	49
3.4. Optimización	50
3.4.1. Condiciones necesarias de Optimalidad	51
3.4.2. Condiciones suficientes de Optimalidad	51
3.4.3. Técnicas de optimización computacional	52
3.5. Metodología de trabajo	54
4. Configuraciones de los dímeros de teofilina y teobromina	57
4.1. Cargas Parciales para las moléculas de Teofilina y Teobromina	57
4.2. Características geométricas de los dímeros obtenidos para teofilina y teobromina	58
4.3. Posibles Configuraciones de los dímeros de la molécula de Teobromina	63
4.3.1. Dímeros Planos de Teobromina	63
4.3.2. Dímeros Apilados de Teobromina	65
4.4. Posibles Configuraciones de los dímeros de la molécula de Teofilina	69
4.4.1. Dímeros planos de teofilina	69
4.4.2. Dímeros apilados de teofilina	73
Conclusión	76
Bibliografía	77

Capítulo 1

Función, Estructura y Propiedades de las Metilxantinas

Cada célula humana está rodeada por una membrana plasmática, una bicapa de fosfolípidos. La membrana hace posible que la célula pueda mantener una combinación determinada de las especies bioquímicamente activas, además que previene la entrada no deseada de otras sustancias del ambiente exterior. Para que el funcionamiento sea adecuado, la maquinaria bioquímica dentro de una célula tiene que ser capaz de recibir instrucciones desde el exterior. La comunicación inter e intracelular se lleva a cabo por señales químicas y eléctricas, constituyendo sistemas que requieren de características especiales para asegurar precisión y eficiencia. Independiente de la naturaleza de la señal, las células blancas responden por medio de receptores. Estos receptores son proteínas que se unen especialmente y con gran afinidad a la señal molecular (ligando) e inicia la respuesta celular. En la mayoría de los casos los receptores son proteínas transmembrana que al unirse al ligando activan una cascada de eventos que alteran el comportamiento celular, la respuesta se presenta desde milésimas de segundo a minutos. Las metilxantinas son un grupo de alcaloides estimulantes del Sistema Nervioso Central (SNC), siendo estas la teofilina (que se encuentra mayormente en el té), la teobromina (en el chocolate) y la cafeína (en el café). El blanco principal de la acción de las metilxantinas en concentraciones fisiológicamente significativas, son los receptores de adenosina. Se sabe bien que la cafeína es un antagonista competitivo de la adenosina, la cual interactúa con los receptores A1 y A2a [3].

El receptor de adenosina A1 es el mejor conocido y más ampliamente es-

tudiado, encontrándose distribuido en el sistema nervioso central y en otros tejidos del organismo. Estos receptores de adenosina son proteínas transmembranales de siete dominios que comparten una estructura en común (Fig. 1.1), su cadena polipeptídica atraviesa la membrana plasmática 7 veces formando un motivo llamado dominio heptahelicoidal. Los dominios transmembrana están formados por secuencias de varios aminoácidos que adquieren la disposición de hélice alfa, una parte del receptor queda expuesta al lado externo de la membrana plasmática, la cual es la responsable de la interacción con el ligando, mientras que otra parte se expone hacia el lado intracelular, siendo esta responsable de la interacción con las proteínas G.

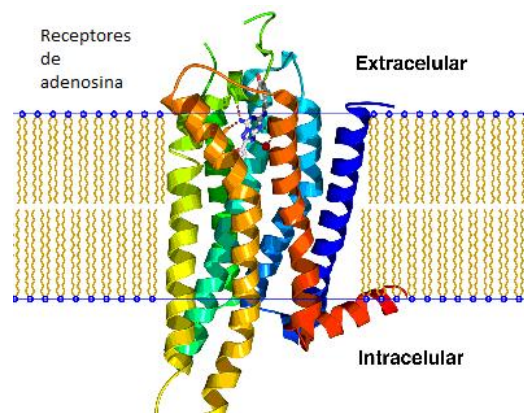


Figura 1.1: Estructura de los receptores transmembranales de la adenosina

Los receptores de adenosina (AR) están implicados en múltiples procesos fisiológicos en el organismo. En el Sistema Nervioso Central (SNC) la adenosina, mediante su acción neuromoduladora, controla la excitabilidad neuronal, ejerciendo su efecto a través de los receptores de alta afinidad (A1 y A2a). Estos receptores interaccionan con receptores de neurotransmisores, neuromoduladores y con sistemas de transporte de adenosina. Al menos dos tipos de receptores median las acciones de la adenosina en el corazón. Los receptores de adenosina A1 disminuyen el consumo de oxígeno disminuyendo la frecuencia cardiaca, y los receptores de la adenosina A2a aumentan el suministro de oxígeno, provocando una vasodilatación coronaria. La activación de los receptores en el cerebro ralentiza la actividad metabólica y reduce la

liberación de neurotransmisores como la dopamina o el glutamato. Cuando la adenosina se libera, su efecto resulta en una reducción general de la actividad neuronal y la consiguiente sensación de somnolencia. De esta forma, la adenosina facilita la entrada en el ciclo de sueño. Al dilatar los vasos sanguíneos, probablemente para aumentar la cantidad de oxígeno que llega al cerebro durante el sueño. Las metilxantinas actúan principalmente como antagonista de los receptores de adenosina sobre todo la cafeína (Figura 1.2), es decir, cuando esta está presente, la adenosina es incapaz de ejercer su efecto, lo que impide esa sensación de somnolencia, ese es el principal motivo por el que el café o el té nos mantiene alerta.

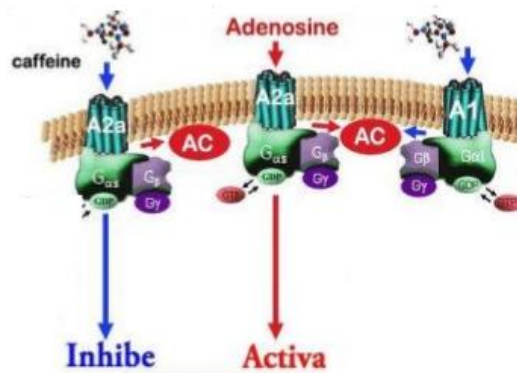


Figura 1.2: Mecanismo de acción de la cafeína

1.1. Estructura de las Metilxantinas

La xantina en sí es dioxipurina y estructuralmente tiene relación con el ácido úrico. La cafeína, la teofilina y la teobromina son xantinas metiladas. A menudo se les llama derivados de xantina, metilxantinas o simplemente xantinas. A continuación se muestra la estructura de la xantina en la figura 1.3.

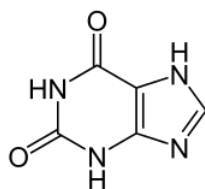


Figura 1.3: Estructura química de la xantina

La cafeína es la 1,3,7-trimetilxantina, la teofilina es la 1,3-dimetilxantina y la teobromina es la 3,7-dimetilxantina. La fórmula estructural de sus tres derivados naturales de la xantina, cafeína, teofilina y teobromina se muestra a continuación en la Figura 1.4.

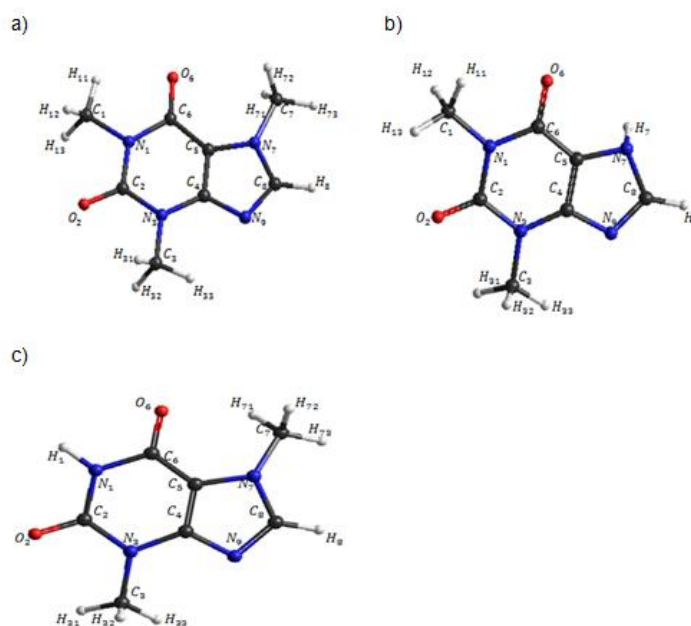


Figura 1.4: Estructura química de las Metilxantinas (a) cafeína. (b) teofilina. (c) teobromina. La numeración de los átomos corresponde con la establecida por la IUPAC

La solubilidad de las metilxantinas es baja y aumenta mucho con la formación de complejos con gran variedad de compuestos. El más notable de estos complejos es el que se forma entre la teofilina y etilenediamina para dar la aminofilina.

La teofilina, la cafeína y la teobromina son tres alcaloides estrechamente relacionados entre sí, que provienen de plantas de amplia distribución geográfica. Se cree que el hombre paleolítico descubrió las principales plantas que contienen cafeína en el mundo y preparo bebidas con ellas. En la actualidad por lo menos la mitad de la población del mundo consume té (que contiene cafeína y pequeñas cantidades de teofilina y teobromina), preparado con hojas de “*thea sinensis*”, un arbusto originario del sur de china y que ahora se cultiva en otros países. Por su parte el cacao y el chocolate, que provienen de las semillas de “*theobroma cacao*”, contienen teobromina y algo de cafeína.

La base de la popularidad de todas las bebidas que contiene cafeína ha sido la antigua creencia de que las mismas tenían acciones estimulantes y anti soporíficas que elevaban el ánimo, disminuían la fatiga y aumentaban la capacidad de trabajo. Los estudios farmacológicos clásicos, principalmente sobre la cafeína, realizados durante la primera mitad de este siglo han confirmado estas creencias revelando que las metilxantinas poseen además otras importantes propiedades farmacológicas, las cuales se aprovecharon durante muchos años en diferentes aplicaciones terapéuticas. Estas propiedades han sido ya reemplazadas por agentes más efectivos, pero en los últimos años ha renacido el interés por el uso terapéutico de las metilxantinas naturales y sus derivados sintéticos, debido especialmente al mayor conocimiento de su base celular de acción y de sus propiedades farmacocinéticas.

1.1.1. Propiedades farmacológicas

La teofilina, la cafeína y la teobromina tienen en común varias acciones farmacológicas de interés terapéutico. Estimulan el sistema nervioso central (SNC), actúan sobre el riñón para producir diuresis, estimulan el musculo cardíaco y relajan el musculo liso, especialmente el bronquial. La teofilina y la cafeína son potentes estimulantes del SNC, la teobromina es prácticamente inactiva. Tradicionalmente, la cafeína se ha considerado la más potente de las metilxantinas, pero la teofilina produce una estimulación del SNC más profunda y potencialmente más peligrosa que la cafeína.

Las metilxantinas estimulan los centros respiratorios bulbares, parecen aumentar la sensibilidad de los centros bulbares a las acciones estimuladoras

del CO_2 , aumentan la resistencia cerebrovascular con la consiguiente disminución de la circulación cerebral y de la tensión de oxígeno del encéfalo, también dilatan las arterias coronarias y aumentan la circulación coronaria. Aumentan la liberación de productos secretorios de muchos tejidos endocrinos y exocrinos, una excepción de esta generalización es la capacidad de las metilxantinas para inhibir la secreción por los mastocitos y posiblemente otras fuentes de mediadores de la inflamación.

1.2. Cafeína

La cafeína es un alcaloide del grupo de las xantinas, fue descubierta en 1819 por el químico alemán Friedrich Ferdinand Runge, fue él quien acuñó el término Kaffein, un compuesto químico presente en el café, término que pasaría posteriormente al español como cafeína. La cafeína recibe también otros nombres (guaranina, teína, mateína) relativos a las plantas de donde se puede extraer y porque contiene otras sustancias que aparecen en esos casos. La denominada guaranina del guaraná, y la teína del té, son en realidad la misma molécula de cafeína, hecho que se ha confirmado en análisis de laboratorio. Estas plantas contienen algunos alcaloides adicionales como los estimulantes cardíacos teofilina y teobromina, y a menudo otros compuestos químicos como polifenoles, que pueden formar complejos insolubles con la cafeína.

La cafeína es un estimulante del sistema nervioso central que produce un efecto temporal de restauración del nivel de alerta y eliminación de la somnolencia. Las bebidas que contienen cafeína, tales como el café, el té, algunas bebidas no alcohólicas (especialmente los refrescos de cola) y las bebidas energéticas gozan una gran popularidad. La cafeína es la sustancia psicoactiva más ampliamente consumida en el mundo. En Norteamérica, el 90 % de los adultos consumen cafeína todos los días. En los Estados Unidos, la Food and Drug Administration (Administración de Drogas y Alimentos) se refiere a la cafeína como una "sustancia alimentaria Generalmente Reconocida Como Segura (Generally Recognized As Safe) utilizada para múltiples propósitos".

La cafeína tiene propiedades diuréticas, si se administra en dosis suficientes a individuos que no tienen tolerancia a ella. Los consumidores regulares, sin embargo, desarrollan una fuerte tolerancia a este efecto, y los estudios generalmente no han podido demostrar la creencia general de que el consumo regular de bebidas cafeinadas contribuye significativamente a la deshidrata-

ción.

La cafeína se encuentra en muchas especies de plantas, donde actúa como pesticida natural. Según ciertos estudios, los altos niveles de cafeína presentes en plantas jóvenes que aún están desarrollando follaje pero carecen de protección mecánica logran paralizar y matar ciertos insectos que se alimentan de la planta. Se han encontrado también altos niveles de cafeína en los suelos alrededor de los vástagos en los granos de café germinados. Se deduce de ello que la cafeína tiene una función natural no sólo como pesticida natural sino también en calidad de sustancia inhibidora de la germinación de otros granos cercanos de café dando por lo tanto mejor oportunidad de supervivencia a las plantas en crecimiento.

Una de las fuentes primarias de cafeína en todo el mundo es el grano de café (la semilla de la planta de café), del cual se prepara la bebida de café. El contenido de cafeína en el café varía ampliamente dependiendo del tipo de grano de café y el método de preparación usados, incluso los granos que se encuentran en un mismo arbusto pueden presentar variaciones en la concentración.

1.2.1. Farmacología de la cafeína

Algunos fabricantes comercializan pastillas de cafeína, aduciendo que la cafeína de calidad farmacéutica favorece la alerta mental. Estos efectos han sido sugeridos por estudios que muestran que el uso de cafeína (ya sea en forma de pastillas o no) origina un descenso en la sensación de fatiga y un aumento en la capacidad de atención. Estas pastillas son comúnmente usadas por estudiantes que se preparan para sus exámenes y por personas que trabajan o conducen durante muchas horas.

El consumo global de cafeína fue estimado en 120 000 toneladas por año,[4] convirtiéndola así en la sustancia psicoactiva más popular. La cafeína es un estimulante metabólico y del sistema nervioso central, y es usada tanto recreacionalmente como médicamente para reducir la fatiga física y restaurar el estado de alerta mental en los casos que exista una inusual debilidad o aletargamiento. La cafeína y otros derivados de la xantina se usan también en recién nacidos para tratar la apnea y para corregir latidos irregulares. La cafeína activa el sistema nervioso central a niveles más altos, provocando un incremento en la alerta y en la vigilia, un flujo de pensamiento más rápido y claro, un aumento de la atención y una mejora de la coordinación corporal. Luego actúa a nivel de la médula espinal cuando se encuentra en dosis altas.

Una vez dentro del cuerpo, posee una química compleja que actúa a través de diferentes mecanismos de acción. Se ha demostrado que la cafeína aumenta la capacidad de trabajo muscular en el hombre. Por ejemplo, la ingesta de cafeína (6mg/kg) aumenta el rendimiento de los esquiadores a larga distancia, particularmente a gran altura.

1.3. Teofilina

La teofilina es un alcaloide de la familia metilxantina, la misma a la que pertenecen la cafeína y la teobromina, caracterizada por ser estimulante del sistema nervioso central y broncodilatadora. Se encuentra naturalmente en el té negro, en el té verde y en la yerba mate.

La teofilina tiene acciones prominentes sobre el sistema circulatorio. Puede producir ligeras disminuciones de resistencia vascular periférica, a veces gran estimulación cardíaca, mayor perfusión de casi todos los órganos y diuresis.

La teofilina es especialmente diurética, por lo que ayuda a la eliminación de líquidos y aumenta la producción de orina.

1.3.1. Farmacología de la teofilina

La teofilina es utilizada en medicamentos para:

1. - Tratar o prevenir crisis de asma.
2. - Tratar los estados broncoespásticos reversibles asociados a enfermedades broncopulmonares con dificultad respiratoria a largo plazo, como la enfermedad pulmonar obstructiva crónica y la bronquitis crónica.
3. - Para el tratamiento de la insuficiencia cardíaca, en determinadas circunstancias.
4. - Las formas orales no alcohólicas se emplean también para el tratamiento de la apnea del recién nacido.

1.4. Teobromina

La teobromina ($C_7H_8N_4O_2$, de nombre químico 3,7-dimetilxantina o 3,7-dihidro-3,7-dimetil-1H-purina-2,6-diona) es un alcaloide de la familia de las

metilxantinas, familia que incluye también a la teofilina y la cafeína. Es por esto que la teobromina produce efectos similares a la cafeína, estimulando el sistema nervioso aunque de manera mucho menos notoria, provocando esa sensación de placer en muchas personas cuando comen chocolate.

Las metil-xantinas son rápidamente absorbidas por los humanos, siendo los niveles de teobromina reducidos en un 50 % entre las seis y diez horas después de su consumo.

Esta sustancia se encuentra en la planta del cacao (*Theobroma cacao*), principalmente en las semillas, las cuales contienen entre un 1 % a un 4 % de ésta. Al fermentar y secar las semillas, y luego procesar el extracto obtenido, se obtiene el chocolate. El chocolate negro contiene aproximadamente 1,5 % de teobromina, esto es diez veces más que el chocolate con leche común.

Sin embargo, la teobromina es altamente tóxica para ciertos animales domésticos, como perros y gatos. Una dosis pequeña de teobromina puede causarles arritmias cardíacas, convulsiones e incluso la muerte.

1.4.1. Farmacología de la teobromina

La teobromina estimula el sistema nervioso central, esto se debe a una célula que ayuda al compuesto a expandirse por los órganos, provocando una limpieza intestinal y además es utilizado como diurético, broncodilatador y provoca diversos efectos cardiovasculares; También puede producir dolor de cabeza, inapetencia o alergias en personas sensibles al chocolate al consumirlo en grandes cantidades.

1.5. Bebidas con Xantinas

Según el contenido de alcaloide por grano de café y la forma de preparación, una taza de café contiene unos 85mg de cafeína y una taza de té contiene unos 50mg de cafeína y 1mg de teofilina; El cacao contiene unos 250mg de teobromina y 5mg de cafeína por taza. Una botella de 360 ml de bebida con cola contiene unos 50mg de cafeína, la mitad agregada por el fabricante en forma alcaloide.

La cafeína es también un ingrediente común de muchas bebidas no alcohólicas (especialmente bebidas gaseosas), como refrescos de cola originalmente preparados a partir de la nuez de cola. Estas bebidas contienen típicamente entre 10 y 50 miligramos de cafeína por ración. En contraste, las bebidas

energéticas como Red Bull pueden contener más de 80 miligramos de cafeína por ración. La cafeína en estas bebidas está presente en los ingredientes usados en ellas, o se añade. El guaraná, un ingrediente primario en las bebidas energéticas, contiene grandes cantidades de cafeína con pequeñas cantidades de teofilina y teobromina junto a un excipiente natural que produce una lenta liberación de estas sustancias.

Las bebidas con xantinas son un problema médico, el exceso de consumo de bebidas con xantinas puede provocar un estado que puede considerarse como de envenenamiento crónico. La estimulación nerviosa central provoca inquietud y trastornos del sueño, la estimulación miocárdica se refleja en extrasístoles y taquicardia.

Capítulo 2

Interacciones no enlazantes en biomoléculas

Los requerimientos estructurales de los ácidos nucleicos son el fruto de la necesidad de estabilizar zonas cercanas con una elevada densidad de carga negativa (grupos fosfato), sosteniendo una estabilidad mecánica suficientemente intensa que no evite la flexibilidad necesaria para permitir los procesos de replicación, transcripción o recombinación. La estructura y flexibilidad de este sistema tan peculiar se modelan gracias al concurso de varias fuerzas, principalmente distinguimos dos tipos de interacciones responsables de definir y estabilizar la conformación del ADN:

1. Interacciones por enlaces de hidrógeno
2. Interacciones de apilamiento o interacción tipo $\pi - \pi$ (stacking).

Las interacciones moleculares mediante enlaces de hidrógeno e interacciones de tipo $\pi - \pi$ (o interacciones de apilamiento) desempeñan un papel importante en las estructuras biológicas. El enlace de hidrógeno es responsable del reconocimiento en pares de bases en el ADN y estabiliza las hélices- α y hojas- β en las estructuras de las proteínas.

Las interacciones fuertes atractivas entre sistemas- π han sido conocidas por más de medio siglo. Controlan diversos fenómenos tales como las interacciones verticales base-base (apilamiento) que estabilizan la estructura de la doble hélice del ADN, la intercalación de drogas en ADN, el empaquetamiento de las moléculas aromáticas en cristales y la estructura terciaria en las proteínas.

Las interacciones de apilamiento ayudan a estabilizar la estructura del dúplex de ADN. En fase gaseosa la espectroscopia láser proporciona un medio para estudiar las propiedades intrínsecas de las moléculas biológicamente relevantes en un disolvente libre de medio ambiente, permitiendo estudios detallados de las fuerzas no covalentes que rigen sus interacciones. Emparejamientos de varias nucleobases por enlaces de hidrógeno han sido ampliamente estudiadas por estas técnicas, sin embargo, existen pocos estudios de las estructuras apiladas.

Los cálculos teóricos muestran que en fase gas, los enlaces de hidrógeno entre nucleobases son dominantes. Sin embargo la población de estructuras apiladas puede mejorar mediante dos caminos. En primer lugar, cuando las moléculas de agua pueden estabilizar estructuras apiladas puenteando las bases. Kabelác y colaboradores [5] predicen que se requieren máximo entre cincuenta y cincuenta y ocho moléculas de agua para formar el mayor número de combinaciones de pares de nucleobases para que las estructuras apiladas se prefieran sobre las que contienen enlaces de hidrogeno. En segundo lugar, la metilación puede llevar a la interacción por apilamiento reduciendo el número de enlaces de hidrogeno.

Las metilxantinas son moléculas con varios grupos metilo en diferentes posiciones, por lo tanto aunado a la aromaticidad de la molécula se favorecen las interacciones apiladas. En fase gaseosa estas moléculas pueden existir en una variedad de diferentes formas tautoméricas, que pueden exhibir drásticamente diferente comportamiento físico, por lo tanto en este capítulo haremos una revisión de estos dos tipos de interacción ya que el objetivo de nuestro trabajo comprende este tipo de moléculas.

2.1. Enlace de hidrogeno

La aparición del concepto de interacciones por puente de hidrogeno en la escena de la química es difícil de determinar. Gran número de estudios de finales del siglo XIX recogen observaciones que pueden considerarse como las primeras evidencias de este tipo de interacciones. Trabajos de químicos alemanes (Werner 1902; Hantzsch 1910; Pfeiffer 1914) se referían a ellas empleando los términos *nebenvalenz* (“Próximo a la valencia”) e *innere kompleksalzbildun* (que podría traducirse como “formación interior de una sal compleja”). Sin embargo, parece que fue Pauling en su exposición general sobre la naturaleza del enlace químico (Pauling 1931) quien hizo aparecer el

término "hydrogen bond" por primera vez en la literatura científica.

Linus Pauling en su obra *The Nature of Chemical Bond* (Pauling 1939) [6] es quien establece definitivamente el concepto de enlace por puente de hidrogeno, y lo hace de la siguiente manera:

"Under certain conditions an atom of hydrogen is attracted by rather strong forces to two atoms instead of only one, so that it may be considered to be acting as a bond between them. This is called a hydrogen bond".

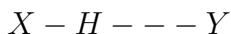
En 1960, Pimentel y McClellan [7] proveen una definición más amplia del enlace de hidrogeno, que dice:

"Un enlace de hidrógeno existe entre un grupo funcional X-H y un átomo o grupo de átomos Y que se encuentran en la misma molécula o en moléculas diferentes cuando:

1. *Se tenga la evidencia de la formación de enlace de hidrogeno (asociación o coordinación) y*
2. *Este nuevo enlace acopla específicamente al grupo X-H y al Y involucrando al átomo de hidrogeno enlazado directamente a X.*

En otras palabras, este enlace existe si un átomo de hidrogeno esta enlazado a dos o más átomos"

Esta definición puede interpretarse de la siguiente manera:



La fuerza de enlace de hidrógeno, es la fuerza atractiva entre un átomo electronegativo y un átomo de hidrógeno unido covalentemente a otro átomo electronegativo. Resulta de la formación de una fuerza dipolo-dipolo con un átomo de hidrógeno unido a un átomo de nitrógeno, oxígeno o flúor, de ahí el nombre de "enlace de hidrógeno", que no debe confundirse con un enlace covalente a átomos de hidrógeno.

Las principales características del enlace de hidrogeno se enlistan a continuación:

1. La energía de los enlaces de hidrogeno cae en el intervalo de 4 kJ/mol a 25 kJ/mol, es decir, son más débiles que los enlaces covalentes, pero más fuertes que las interacciones dipolo-dipolo o las fuerzas de dispersión.
2. En el interviene siempre el H, produciéndose la interacción entre un grupo donador X y un aceptor Y; este último con un par de electrones libres y ambos deben ser electronegativos.

3. El enlace de hidrogeno tiende a ser lineal, es decir aceptor (X), hidrogeno (H) y donador (Y) alineados, en cuyo caso la interacción alcanza la máxima estabilidad.
4. El valor del ángulo θ del enlace de hidrogeno puede adoptar valores menores de 180° , pero conforme el ángulo disminuye la fuerza de la interacción también disminuye; se estima que una desviación de 20° produce una disminución de la energía del enlace del 10 %. Para valores del ángulo de 90° o menores no hay enlace de hidrogeno.
5. Los enlaces de hidrogeno poseen una longitud de enlace característica, entre 2.5 \AA y 4 \AA que depende de la geometría y de la distribución electrónica de los grupos moleculares implicados. En todos los casos las longitudes de los enlaces de hidrogeno son superiores a las longitudes características de los enlaces covalentes y más pequeñas que las que podemos calcular con los radios de van der Waals.
6. Los enlaces de hidrogeno son predominantemente interacciones electrostáticas que generan un gran carácter dipolar, sin que necesariamente se llegue al estado iónico. Como se dijo anteriormente X y Y deben ser electronegativos, así el enlace covalente X-H debe estar polarizado y polarizado estarán los orbitales no enlazantes del aceptor Y. Es decir, el enlace de hidrogeno es básicamente una interacción dipolar; No obstante tiene un cierto carácter covalente pues como hemos visto las longitudes de enlace son menores que las distancias de van der Waals.
7. Los enlaces de hidrogeno pueden ser inter e intramoleculares. Así la formación de un enlace de hidrogeno entre las moléculas de agua y la cadena poli peptídica de una proteína, entre dos cadenas diferentes (subunidades) de una proteína, entre un ácido nucleico y una proteína, etc., son ejemplos de enlaces de hidrogeno intermoleculares. La formación de enlaces de hidrogeno en los elementos de estructura secundaria en proteínas, enlaces terciarios en ARNs, etc., son ejemplos de enlaces de hidrogeno intracatenarios. Además existen enlaces bifurcados y aceptores compartidos.

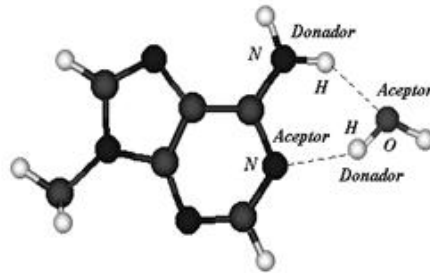


Figura 2.1: Ejemplo de la interacción de una molécula de agua con una base nitrogenada con la formación de dos enlaces de hidrógeno.

2.2. Características geométricas y energéticas del enlace del enlace de hidrógeno

2.2.1. Parámetros geométricos

En general, el enlace de hidrógeno está constituido por un grupo donador de hidrógeno X-H y un grupo aceptor Y, con requerimiento mínimo de acercamiento entre ellos dado por las distancias de contacto de van der Waals. Esta no es más que la distancia mínima a la cual se pueden acercar dos átomos no enlazados y su definición principal está dada por el radio de van der Waals. Por lo tanto, el enlace de hidrógeno se puede describir en función de los siguientes parámetros: d , θ y r , como se muestra en la Figura 2.2.

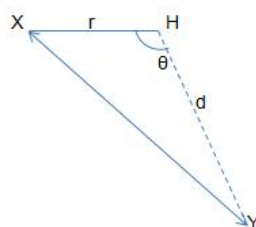


Figura 2.2: Definición de los parámetros geométricos r , d y θ para el enlace de hidrógeno.

En algunos casos, las interacciones de los enlaces de hidrógeno son de amplio rango en distancias. Un grupo X-H puede estar enlazado a la vez a más de un grupo aceptor Y, por consiguiente, si hay dos grupos aceptores Y_1 y Y_2 se forma el enlace de hidrógeno bifurcado. Los enlaces de hidrógeno bifurcado están caracterizados por las distancias r , d_1 y d_2 y los ángulos θ_1 , θ_2 y θ_3 , así como se muestra en la Figura 2.3

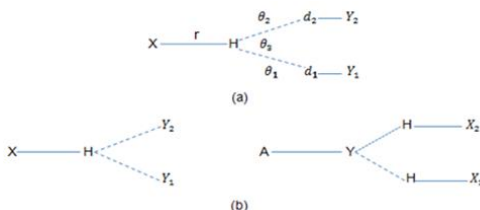


Figura 2.3: Enlace de hidrógeno bifurcado. a) Parámetros geométricos. b) Definición de enlace de hidrógeno bifurcado (Derecha) y aceptor bifurcado (Izquierdo).

Por último, los enlaces X-H (X-H- dador) dominan energéticamente por encima de los enlaces de hidrógeno débiles H—A (A- aceptor) por una diferencia abrumadora. No obstante, las entidades X-H y H—A no son independientes una de la otra, ya que los enlaces de hidrógeno no son

interacciones de pares de átomos sino de pares de grupos de átomos. La distancia de X-H no es constante y está afectada por H—A, de modo que la distancia de H—A depende considerablemente de la naturaleza de R_1 , X y R_2 ; del mismo modo, el enlace $A-R_2$ experimenta el efecto de la influencia del grupo donador. Análogamente, esto sucede en el enlace de hidrógeno bifurcado, que depende de la interacción de un grupo de cuatro átomos, X , H , A_1 y A_2 , así como se muestra en la Figura 2.4.

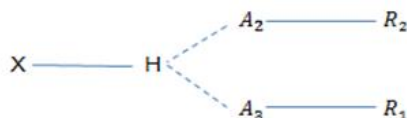


Figura 2.4: Enlace de hidrogeno bifurcado con dependencia de cuatro átomos.

2.2.2. Parámetros energéticos

La Figura 2.5 representa esquemáticamente el perfil de energía potencial en función de la distancia de una interacción intermolecular típica, dado por un enlace de hidrógeno X-H—A. La energía más baja se tiene cuando la distancia d_0 llega al equilibrio, haciéndose negativa si $d \geq d_0$, y positiva sólo para distancias más cortas. La línea cero en energía separa las regiones energéticas de estabilización ($E \leq 0$) de las de desestabilización ($E \geq 0$). Cualquier desviación no significativa de la distancia de equilibrio no representaría un costo en entalpía. Sin embargo, si tal desviación resultara muy grande, los gastos entálpicos también serían grandes, de tal manera que el sistema se desestabiliza. Es claro, que si se consideran las fuerzas de interacción en vez de las energías de interacción, entonces a la distancia de equilibrio las fuerzas se igualan a cero.

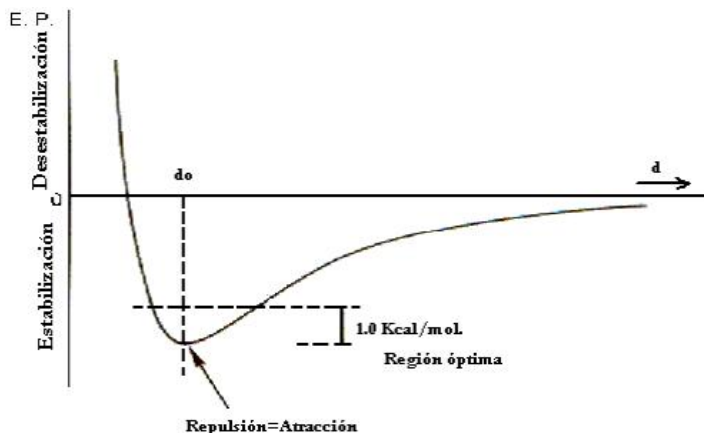


Figura 2.5: Perfil de energía potencial en función de la distancia para una interacción típica biomolecular.

Esto lleva a que se origine una fuerza a distancias $d \neq d_0$ que intentará estabilizar la geometría óptima de interacción del sistema; por consiguiente, para todas las distancias $d \geq d_0$, esta fuerza se hace atractiva. En cambio, si estas distancias son tales que $d \leq d_0$, ésta se hace repulsiva. La fuerza de atracción más fuerte tiene lugar en el punto de inflexión de la curva, que representa una geometría muy inestable. Por otra parte, la fuerza repulsiva se hace muy grande si se acorta mucho el valor de d . Si ahora se extiende la descripción de función de potencial para el enlace de hidrógeno asimétrico $X-H \cdots A$, se tiene un perfil de energía potencial, tal y como se muestra en la figura 2.6.

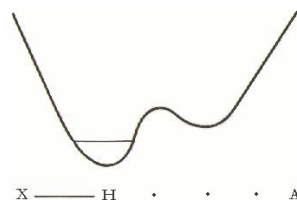


Figura 2.6: Perfil de energía típico para un sistema de enlace de hidrógeno asimétrico.

La curvatura en el mínimo de la Figura 2.5, está asociada a la constante de fuerza de la interacción, de tal manera que mientras más agudo sea este mínimo, mayor será la constante de fuerza y a su vez más difícil de distorsionar geoméricamente.

Entonces, un mínimo ancho y poco profundo, implica una constante de fuerza menor y con interacciones fáciles de distorsionar.

No obstante, en fase condensada, la curva de energía potencial por sí misma es una función del medio y de sus alrededores, y es un fenómeno típico de cooperatividad que puede influir significativamente sobre la función de onda de energía potencial. Por consiguiente, en las estructuras cristalinas sólo unos pocos enlaces de hidrógeno pueden adoptar distancias d_0 , mientras que la mayoría de estos enlaces presentan algún grado de distorsión. Sin embargo, las distorsiones fuertes son poco probables por los impedimentos entálpicos. Kroon y colaboradores [8], realizaron un análisis estadístico estudiando 196 enlaces de hidrógeno de 45 estructuras cristalinas de polisacáridos, sacáridos y compuestos relacionados; además, derivaron las constantes de fuerzas y la energía de las distintas configuraciones del sistema donador-aceptor O-H...O. Esta última la obtuvieron por cálculos *ab initio* de campo auto-consistente (SCF) a partir de 40 configuraciones de dímeros (H₂O)₂ cercanas a las geometrías de equilibrio.

Los resultados estadísticos, arrojaron que la variación de los parámetros geométricos presenta una distribución de tipo Boltzmann.

Algunas conclusiones derivadas de este estudio fueron:

- a) Para aquellos casos alejados de la geometría óptima, la mayoría de los enlaces de hidrógeno observados son no lineales, donde la falta de linealidad en los enlaces de hidrógeno presenta tanto contribuciones geométricas como energéticas.
- b) Los valores de energía calculada para las geometrías no-lineales no superan en la mayoría de los casos 1 kcal/mol respecto al valor calculado para la geometría óptima.
- c) La forma de la curva de energía potencial en la región de 1 kcal/mol está determinada por las variaciones de la energía clásica de interacción coulombica.

Si se varían la distancia la distancia d y el ángulo θ correspondientes al enlace de hidrogeno el resultado es una superficie de energía potencial, tal y como se observa en la Figura 2.7.

Por ende, si ocurre sobre este ángulo θ una compresión o expansión, surgirá una fuerza que restablecerá la posición inicial y óptima del enlace de hidrógeno formado. Normalmente, las fuerzas vectoriales tienen lugar en las componentes perpendiculares al enlace de hidrógeno.

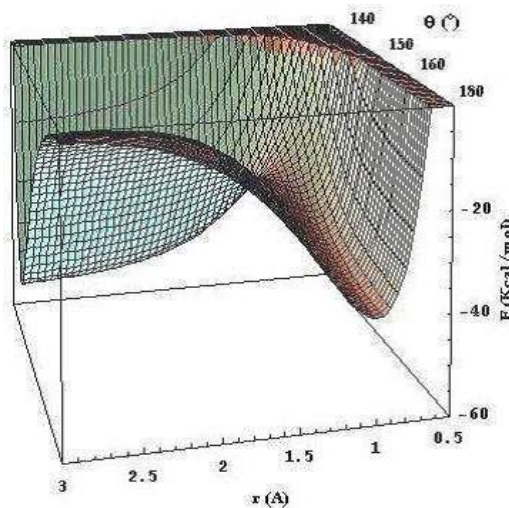


Figura 2.7: Superficie de energía potencial para una interacción molecular.

2.3. El agua y los enlaces de hidrogeno

El agua es un componente fundamental en los procesos de vida. No existe especie animal o vegetal que pueda prescindir de la presencia total del agua. Esto se observa tanto a niveles macroscópicos como microscópicos. Tal es así que cuando se retira el agua de macromoléculas, tales como proteínas y ácidos nucleicos, éstas pierden su función biológica como consecuencia de la degradación de su arquitectura tridimensional.

El agua es quizás el ejemplo más relevante al que se puede hacer referencia cuando se habla de enlaces de hidrogeno. La naturaleza de sus enlaces de hidrogeno le confieren una gran afinidad hacia un sin número de sistemas biológicos, principalmente con las estructuras de las cuales se origina la vida: proteínas, ácidos nucleicos, lípidos y complejos carbohidratos.

Estudios de RMN-H1 evidencian el hecho de que el enlace de hidrogeno en los dímeros de agua es sustancialmente fuerte, dado que existe aún en el estado gaseoso en concentraciones significativas. No obstante como las moléculas de agua están relativamente separadas en solución, existe espacio suficiente para que estas puedan adoptar la configuración que tenga el menor requerimiento energético. Esto lleva a pensar que el enlace de hidrogeno en la molécula de agua tiene consigo un conjunto de movimientos aleatorios con estiramientos y flexiones de todos los enlaces involucrados. En el agua líquida los arreglos instantáneos de los puentes de hidrogeno no son simétricos. De hecho, estos arreglos son aleatorios.

Desde el punto de vista del enlace de hidrogeno, la molécula de agua es la única en poseer doble grupo donador y doble grupo aceptor de enlaces de hidrogeno, los cuales están determinados parcial o totalmente por la combinación de sus propiedades dinámicas flip-flop y las de cooperatividad de los grupos hidroxilo, que son los responsables de la esfera de hidratación alrededor de las proteínas y los ácidos nucleicos, además de mantener la estructura tridimensional de los mismos, ya sea en su estado natural o cristalino. Las dimensiones del enlace de hidrogeno fueron determinadas experimentalmente cuya estructura se muestran en la Figura 2.8 las dimensiones de los parámetros son $R = 2.976 (+0.000, -0.030)$ Å y con ángulos α y β de $6 \pm 20^\circ$ y $57 \pm 10^\circ$ respectivamente [9].

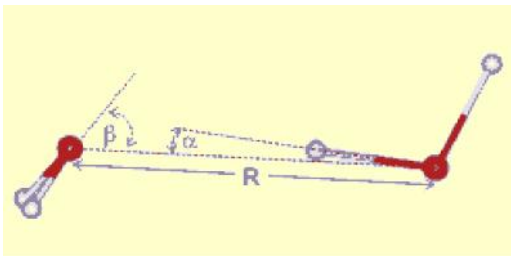


Figura 2.8: Dimensiones R , α y β del enlace de hidrógeno

Las proteínas globulares de tamaño pequeño contienen moléculas de agua escondidas. Estas moléculas de agua pueden permanecer ocultas en el interior de la proteína globular o localizarse en las cercanías de la superficie.

Las moléculas de agua no solo se ubican en las cavidades de la estructura proteica, sino que son necesarias para estabilizar el plegamiento tridimensional, cuya función es llevada a cabo por los enlaces de hidrógeno; De lo contrario, se verían poco satisfechos los grupos donadores y aceptores de hidrógeno, además de los grupos medianamente cargados. En algunos casos, estas moléculas de agua forman enlaces de hidrógeno con los grupos cargados de las cadenas laterales, lo cual previene el colapso estructural de los residuos de aminoácidos cargados de la cadena opuesta. Tales moléculas de agua están rodeadas, en gran parte, por un ambiente apolar, donde sus enlaces de hidrógeno con frecuencia son fuertes y están bien definidos.

En las estructuras cristalinas de moléculas medianas de proteínas, las moléculas de agua están unidas, comúnmente, a tres o cuatro enlaces de hidrógeno simultáneamente.

Las moléculas de agua en la estructura de las proteínas no se encuentran solas sino que están ensambladas en forma de cúmulos. En algunas de las estructuras de proteínas, una molécula de agua interna se asocia con tres grupos aceptores indicados en los enlaces triple-centrados como los observados en las estructuras cristalinas de los α -aminoácidos zwitteriónicos.

Otro ejemplo de la importancia del agua en la funcionalidad de las proteínas lo representa el control que ésta ejerce en el flujo de los iones sodio, calcio y potasio a través de los canales inter- y extra-membranales de las células en la regulación de las señales nerviosas. También existen en las membranas celulares los denominados canales de agua, que facilitan el rápido transporte de agua en respuesta a un gradiente osmótico. En las proteínas, las moléculas de agua no sólo hidratan la superficie de éstas, sino que también ocupan los intersticios entre moléculas de la proteína en la red cristalina, encontrándose en posiciones específicas.

El efecto cooperativo observado en las cadenas $H-O \cdots H-O \cdots O$ influye marcadamente en la fuerza del enlace de hidrógeno, encontrándose que en el agua líquida ésta puede llegar a ser 250 % mayor que en un dímero de agua.

2.4. El enlace de hidrogeno en biomoleculas

2.4.1. Enlaces de hidrogeno en Proteínas

El enlace de hidrogeno en los α -aminoácidos esta dominado por los grupos amonio y carboxilato. El enlace de hidrogeno en los aminoácidos es difícil de definir; Sin embargo, en ellos se pueden deducir cuatro diferentes grupos donadores, el $N-H^+$, N-H, O-H y $C-H^{1,56}$ y nueve grupos aceptores el $-COO^-$, -COOH, -O-H, OH_2 , CI^- , $-OSO_3$ y -NH. El grupo donador de enlaces de hidrogeno predominante en los aminoácidos es el $-NH^3$ y el aceptor es carboxilato $-COO^-$.

El enlace de hidrogeno en la red cristalina de los aminoácidos es uno de los factores principales que determina su empaquetamiento molecular. Es importante, notar que las fuertes propiedades aceptoras de los átomos de oxigeno de los grupos carboxilato y carbonilo parecen dominar los patrones de enlaces de hidrogeno en los aminoácidos, en comparación a las propiedades direccionales de los enlaces donadores.

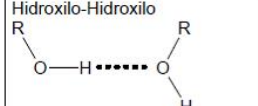
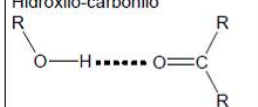
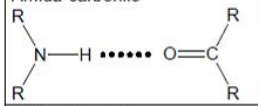
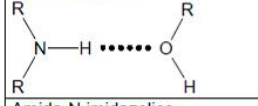
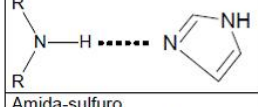
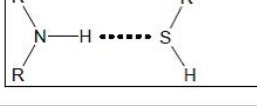
Tipo	Distancia Donor-Aceptor (Å)	Reducción respecto a radios de van der Waals.
Hidroxilo-Hidroxilo 	2.8 ± 0.1	25%
Hidroxilo-carbonilo 	2.8 ± 0.1	20 %
Amida-carbonilo 	2.9 ± 0.1	20 %
Amida-hidroxilo 	2.9 ± 0.1	20 %
Amida-N imidazolico 	3.1 ± 0.2	15 %
Amida-sulfuro 	3.7	10 %

Figura 2.9: Características geométricas de los principales tipos de enlaces de hidrogeno en biomoléculas.

2.4.2. Enlaces de hidrogeno en ADN

En este apartado se expondrá brevemente la acción moduladora de las interacciones por puente de hidrogeno en la estructura del ADN.

La disposición de grupos dadores y aceptores de puentes de hidrogeno hace que cada base presente un perfil de reactividad único, que le permite establecer contactos específicos con otras moléculas. El reconocimiento de las bases canónicas entre sí a través de los denominamos

pares de Watson-Crick (WC) (Watson and Crick 1953) [10] define los apareamientos más frecuentes del ADN en condiciones fisiológicas.

Las interacciones WC, al acondicionar la estabilidad del mensaje genético, presentan una notable importancia. Sin embargo, a pesar de su importancia, los pares WC no son los únicos posibles, pudiendo formarse complejos alternativos. Así tenemos pares que surgen de rotar 180° una de las bases implicadas (reverse Watson-Crick: rWC), interacciones donde intervienen las posiciones 6,7 y 8 de purinas (interacciones tipo Hoogsteen), que también pueden presentarse en su forma invertida (reverse Hoogsteen; rH), o aquellas donde el reconocimiento entre las caras (WC o Hoogsteen) está desplazado, formando un menor número de puentes de hidrógeno estables (interacciones tipo wobble). En ocasiones, tales apareamientos favorecen la estabilidad de formas tautoméricas o estados de protonación inexistentes en otras condiciones.

2.5. Interacciones de Apilamiento $\pi - \pi$ (Stacking)

Solo los gases nobles se presentan en la naturaleza como átomos separados. En la mayoría de los materiales, los átomos están unidos con enlaces químicos. Los enlaces químicos son las fuerzas que mantienen unidos a los átomos en las moléculas de los elementos, un enlace químico se forma entre dos átomos si la disposición resultante de los dos núcleos y sus electrones tienen una energía menor que la energía total de los dos átomos separados. Esta energía menor se puede lograr mediante la transferencia completa de uno o más electrones de un átomo al otro, formándose iones que permanecen unidos por atracciones electrostáticas llamadas enlace iónico. La menor energía también puede lograrse compartiendo electrones, en este caso los átomos se unen mediante enlace covalente y se forman moléculas individuales. Un tercer tipo de enlace es el enlace metálico en el cual un gran número de cationes se mantienen unidos por un mar de electrones. Los átomos se combinan con el fin de alcanzar una configuración electrónica más estable (de menor energía).

Solo los electrones externos de un átomo pueden ser atraídos por otro

átomo cercano. En la formación de enlaces químicos solo intervienen los electrones de valencia, es decir, aquellos electrones que residen en la capa exterior parcialmente ocupada de un átomo (capa de valencia). Con la espectroscopia electrónica y de rayos X se han obtenido pruebas de la no intervención de los electrones internos.

La descripción mecano-cuántica del enlace químico se hace con la resolución exacta de la ecuación de Schrödinger, sin embargo es imposible para moléculas poli electrónicas, por lo que se precisa hacer algunas aproximaciones. Estas aproximaciones se basan en dos modelos alternativos.

- a) Teoría del enlace de valencia (TEV): Construye la función de onda de la molécula vista como un conjunto de pares electrónicos localizados en un átomo o entre dos átomos. Se trata de la versión mecano-cuántica de las ideas de Lewis y comparte con ellas conceptos como la resonancia. Esta teoría explica los enlaces covalentes en términos de orbitales atómicos. Supone que los electrones de una molécula ocupan orbitales atómicos de los átomos individuales. La TEV establece que una molécula se forma a partir de la reacción de los átomos, los cuales al unirse aparean sus electrones y traslapan (solapan) sus orbitales. El solapamiento de orbitales permite a dos electrones con espines opuestos, compartir el espacio común entre los núcleos y formar así un enlace covalente. Los electrones de la región de solapamiento, son atraídos simultáneamente por ambos núcleos, lo que mantiene unidos a los átomos y forma un enlace covalente.
- b) Teoría de los orbitales moleculares: Construye la función de onda de la molécula como un conjunto de orbitales moleculares deslocalizados por toda la molécula.

En ambas teorías, el solapamiento de orbitales atómicos juega un papel fundamental, cuando participan orbitales direccionales, el solapamiento depende de la dirección de interacción.

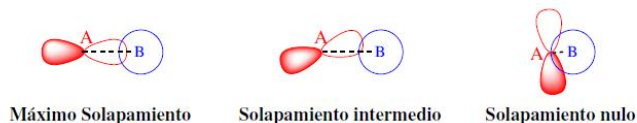
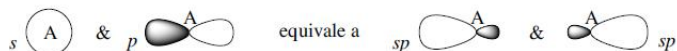


Figura 2.10: Solapamiento atómico.

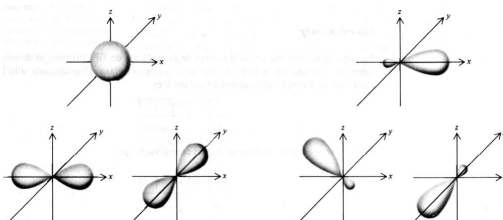
En el caso de moléculas poliatómicas, se puede aplicar el modelo de solapamiento de electrones, pero un esquema satisfactorio debe explicar también la geometría molecular.

La hibridación es una manera teórica de describir los enlaces necesarios para explicar una estructura molecular determinada. La hibridación es un proceso en el que se mezclan dos o más orbitales atómicos de un átomo.

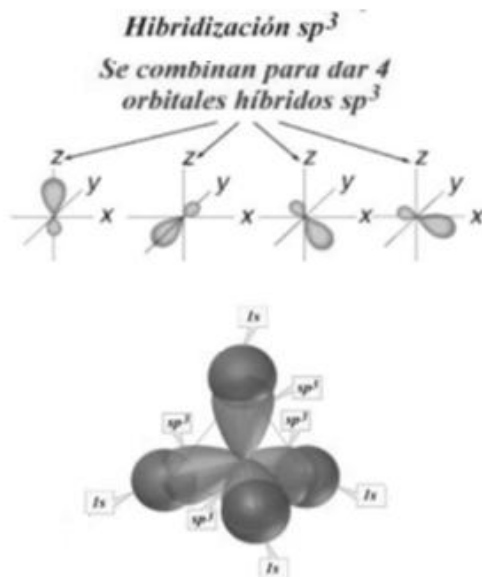
Así se tiene una hibridación sp en la cual los orbitales $2s$ y $2p$ se deben mezclar, para formar dos orbitales híbridos sp equivalentes, por ejemplo en la molécula $BeCl_2$ que es una molécula lineal (Figura 2.10).

Figura 2.11: Hibridación sp .

Por otro lado la hibridación sp^2 mezcla el orbital “ $2s$ ” con los dos orbitales “ $2p$ ” y se generan 3 orbitales híbridos sp^2 (Figura 2.11), los que están orientados hacia los vértices de un triángulo equilátero por ejemplo para la molécula B_3F predice una geometría plana trigonal.

Figura 2.12: Hibridación sp^2 .

La hibridación sp^3 mezcla un orbital “s” con los tres orbitales “p” de la misma subcapa obteniendo cuatro orbitales atómicos híbridos, estos cuatro orbitales atómicos híbridos están dirigidos hacia los cuatro vértices de un tetraedro regular formando un ángulo de $109,5^\circ$. Como en el ejemplo de CH_4 de la Figura 2.13.

Figura 2.13: Hibridación sp^3 .

La teoría del orbital molecular (TOM) describe los enlaces covalentes en función de orbitales moleculares (OM). Los OM son el resultado de la interacción de los orbitales atómicos (OA) de los átomos que se enlazan y están relacionados con la molécula entera (a diferencia del OA que solo se relaciona con un átomo).

Igual que los OA contienen un máximo de dos electrones, con espines opuestos (Principio de Exclusión de Pauli) y tienen energías definidas. El número de orbitales moleculares formados es igual al número de orbitales atómicos combinados.

En la molécula de H_2 de acuerdo a TOM, el solapamiento de los orbitales 1s de dos átomos de hidrogeno conduce a la formación de dos orbitales moleculares: un OM de enlace (σ) y un OM de antienlace (σ^*).

El OM de enlace, tiene menor energía y mayor estabilidad que los orbitales atómicos que lo formaron.

Un OM de anti enlace, tiene mayor energía y menor estabilidad que los orbitales atómicos que lo formaron. Se representa con un asterisco (*).

En un OM σ , la densidad electrónica, se concentra simétricamente alrededor de una línea entre los núcleos de los átomos que se enlazan, en el OM σ^* de anti enlace, hay un nodo entre los núcleos donde la densidad electrónica es cero.

En el caso de orbitales “p” el proceso es más complejo porque pueden interactuar de dos formas diferentes: dos orbitales “p” se pueden acercar entre sí a través de sus extremos para producir un OM σ de enlace y un OM de antienlace. De manera alternativa, dos orbitales “p” pueden solaparse lateralmente para generar un OM π de enlace y otro de anti enlace π^* . En un orbital π (de enlace o de anti enlace) la densidad electrónica se concentra arriba y debajo de una línea imaginaria entre los dos núcleos que se enlazan.

2.5.1. Moléculas aromáticas

Los hidrocarburos aromáticos constituyen un grupo dentro de los hidrocarburos cíclicos no saturados. Todos ellos se derivan de uno de ellos el benceno. Este compuesto es un hidrocarburo cíclico con seis átomos de carbono y tres dobles enlaces, su fórmula empírica es C_6H_6 .

Estructuralmente, dentro del anillo los átomos de carbono están unidos por un enlace sp^2 entre ellos y con el orbital “s” del hidrógeno, quedando un orbital “p” perpendicular al plano del anillo y que forma con el resto de orbitales “s” de los otros átomos un enlace π por encima y por debajo del anillo.

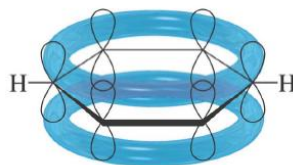


Figura 2.14: Orbitales π del benceno.

Estos sistemas cíclicos poseen una gran energía de resonancia y en los que todos los átomos del anillo forman parte de un sistema conjugado único (conjugación cíclica cerrada).

Pero no todos los anulenos son compuestos aromáticos como ciclobutadieno y ciclooctatetraeno. Para que un compuesto sea aromático, y por tanto posea una elevada estabilidad termodinámica y una reactividad química diferente de la de los alquenos y polienos conjugados, debe cumplir las siguientes condiciones:

- a) Su estructura debe ser cíclica y debe contener enlaces dobles conjugados.
- b) Cada átomo de carbono del anillo debe presentar hibridación sp^2 , u ocasionalmente sp , con al menos un orbital “p” no hibridizado.
- c) Los orbitales “p” deben solaparse para formar un anillo continuo de orbitales paralelos. La estructura debe ser plana o casi plana para que el solapamiento de los orbitales “p” sea efectivo.
- d) Además, debe cumplir la regla de Hückel, cuyo enunciado es el siguiente:

- Para que un compuesto sea aromático, el número de electrones π en el sistema cíclico tiene que ser $4n+2$, siendo n un número entero (0,1,2, etc.).
- Si el número de electrones π en el sistema cíclico es $4n$, siendo n un número entero (0,1,2, etc.), el compuesto es antiaromático.

Al emplear la regla de Hückel se debe estar seguro que el compuesto bajo consideración cumple con los criterios de un sistema aromático o anti aromático, es decir debe tener un anillo continuo de orbitales “p” que se solapan en una conformación plana.

El benceno es un anuleno con un anillo continuo de orbitales “p” que se solapan. En el benceno hay seis electrones π , de modo que es un sistema $4n+2$ con $n=1$. La regla de Hückel predice que el benceno será aromático.

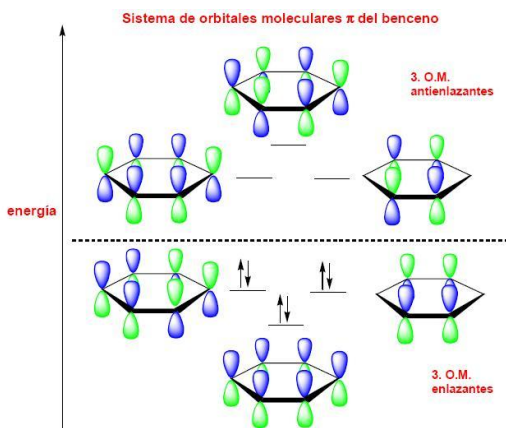


Figura 2.15: Orbitales π del benceno.

Todos los derivados del benceno, siempre que se mantenga intacto el anillo, se consideran aromáticos. La aromaticidad puede incluso extenderse a sistemas policíclicos, como el naftaleno, antraceno y otros más complejos, siempre que posean el número adecuado de electrones π y que además sean capaces de crear formas resonantes. Dentro de estos

compuestos se encuentran las bases de los ácidos nucleicos y las Xantinas, moléculas aromáticas de las cuales se derivan las moléculas objeto de nuestro estudio: teobromina y teofilina.

2.5.2. Interacción $\pi - \pi$ en ADN

En química supramolecular, el apilamiento o stacking se refiere a un ordenamiento en pila, frecuentemente de moléculas aromáticas, que es adoptado debido a interacciones interatómicas.

En el ADN, el apilamiento π se da entre nucleótidos adyacentes y suma en la estabilidad de la estructura molecular. Las bases nitrogenadas de los nucleótidos están hechas de anillos de purina o pirimidina, consistentes ambos de anillos aromáticos. Dentro de la molécula de ADN, los anillos aromáticos se ubican casi perpendicularmente a la dimensión longitudinal de las hebras de ADN. En consecuencia, las caras de los anillos aromáticos están alineados paralelamente unos a otros, permitiendo que las bases participen en interacciones aromáticas. A través de estas interacciones aromáticas, los enlaces π se extienden de los átomos participantes en los enlaces dobles, se traslapan con los enlaces π de las bases adyacentes. Éste es un tipo de enlace químico no covalente. Aunque un enlace no covalente es más débil que un enlace covalente, la suma de todas las interacciones de apilamiento π dentro de la molécula de doble hebra del ADN crean una gran red de energía estabilizante.

Tras el modelo teórico de doble hélice propuesto por Watson y Crick para la estructura del ADN, la idea de que esta biomolécula puede explorar disposiciones tridimensionales alternativas ha ido consolidándose. De hecho, el ADN puede adoptar una gran diversidad de formas en función de las condiciones experimentales, de la secuencia de bases o del proceso biológico en que esté involucrado. En todas ellas se conserva una estructura general helicoidal, lo que parece una consecuencia directa de las interacciones de stacking entre las bases y de la minimización electrostática entre grupos fosfato.

La naturaleza de las interacciones stacking ($\pi - \pi$) es compleja, pues intervienen principalmente tres contribuciones:

- a) La interacción entre distribuciones de carga electrostática de las bases.

- b) La interacción debida a las fuerzas de dispersión de ambos sistemas π .
- c) La desestructuración del conjunto de moléculas de agua cercanas a los anillos aromáticos (efecto hidrofóbico).

Diversas técnicas experimentales, como la osmometría, la ultracentrifugación, la calorimetría, la desnaturalización y la resonancia magnética nuclear (RMN), se han empleado en la descripción termodinámica de este tipo de interacciones (Tribolet and Sigel 1987; Guckian et al. 1996)[11]. Los datos de RMN han sido confirmados por estudios teóricos (Cieplak and Kollman 1988; Friedman and Hoig 1995; Alhambra et al. 1997; Hobza and Sponer 1999)[12]. Según las evidencias obtenidas, los apilamientos (stacking) que involucran guanina son las más estables, siendo los de menos estabilidad los que contienen timina.

Existe una disminución progresiva de la estabilidad a medida que se reduce el tamaño de los anillos implicados. De este modo, puede establecerse la siguiente gradación de stacking:

$$\text{purina} : \text{purina} \geq \text{purina} : \text{pirimidina} \geq \text{pirimidina} : \text{pirimidina}$$

En la fase gaseosa para las bases (nucleótidos) la fuerza de las interacciones de enlace de hidrogeno supera a la estabilización producida por el apilamiento stacking. Sin embargo, en solventes polares como el agua, las bases no interaccionan mayoritariamente por enlace de hidrogeno, dado que implica la desaparición de intensas interacciones nucleobase-agua. Por ello, el stacking cobra una enorme importancia en medio acuoso, considerándose de hecho actualmente como la principal directora de la estructuración del ADN en entornos polares.

Capítulo 3

Simulación Computacional de Biomoléculas

La Biofísica computacional está compuesta de dos grandes áreas basadas en principios físicos distintos. Por una parte, la Mecánica Molecular (MM) basada en la mecánica clásica, considerando a los átomos como partículas puntuales (dotadas de carga) interaccionando unos con otros mediante enlaces que se asemejan a resortes. Por otra parte, tenemos los métodos de estructura electrónica (MEE) que se basan en la aplicación de la Mecánica Cuántica a los sistemas moleculares. Ambos métodos permiten calcular un conjunto básico de propiedades moleculares, siendo la más importante la energía del sistema, correspondiente a un determinado arreglo de átomos (conformación de una molécula) así como las frecuencias vibracionales, el momento dipolar, etc. Actualmente estos métodos se han desarrollado a tal grado que la exactitud de los resultados son comparables con los datos experimentales. En este trabajo estudiamos con estos métodos dos moléculas con actividad biológica y de amplio consumo, dichas moléculas pertenecen a la familia de las xantinas.

Los métodos de modelado molecular son usados rutinariamente en la actualidad para investigar la estructura, dinámica y termodinámica de sistemas inorgánicos, biológicos y poliméricos. Los tipos de actividad biológica que han sido investigados usando modelado molecular incluyen plegamiento proteico, catálisis de enzimas, estabilidad de proteínas,

cambios conformacionales asociados con la función biomolecular, y reconocimiento molecular de proteínas, ADN, y complejos de membranas.

En principio es posible usar un método muy exacto para cualquier sistema molecular, resolviendo las ecuaciones de la Mecánica Cuántica. Aunque este método es muy conocido y está disponible en muchos paquetes, su costo computacional crece factorialmente (más rápido que exponencialmente) con el aumento del número de electrones en el sistema. Así, se ha desarrollado un gran número de aproximaciones dentro de la metodología de la Mecánica Cuántica de tal forma, que, se pueda lograr una mejor correspondencia entre su exactitud y el costo computacional. La química computacional contemporánea puede de manera rutinaria y con suficiente exactitud calcular las propiedades de las moléculas que contienen no más de 40 electrones. Las moléculas que contienen varias docenas de electrones pueden ser resueltos por los métodos aproximados como DFT (Teoría del Funcional de la Densidad). Otro grupo de los métodos que incluyen partes de los cálculos ab-initio, son los métodos semi empíricos. Dentro del marco de los cálculos cuánticos algunos fragmentos de información (como las integrales de dos electrones) algunas veces se aproximan o se omiten completamente. Para corregir esta pérdida de información se introduce una parametrización y aparecen los métodos semi empíricos. Sus resultados se ajustan a un conjunto de parámetros de tal manera, que reproduzcan de la mejor manera los datos experimentales o, algunas veces, resultados ab initio. Para los sistemas con electrones- π fue propuesto el método de Hückel (por Erick Hückel) y para los electrones de valencia el método de Hückel Extendido (por Roald Hoffmann). Los cálculos semiempíricos son mucho más rápidos que su contraparte ab initio. Sin embargo, sus resultados pueden ser erróneos si la molécula en consideración no es suficientemente parecida a las moléculas de la base de datos que se usó para parametrizar el método. Los cálculos más exitosos de este grupo de métodos fueron realizados en química orgánica para pocos elementos y moléculas de tamaño moderado.

El método de la Mecánica Molecular (MM), que es la herramienta principal usada en el presente trabajo, es un método empírico. Este método puede modelar sistemas moleculares grandes usando las expresiones clásicas para la energía de éstas. Las constantes que aparecen en sus ecuaciones se obtienen a partir de los datos experimentales o los cálcu-

los ab initio. La base de datos usada para la parametrización es crucial para el éxito de los cálculos de la Mecánica Molecular. Al conjunto de parámetros y funciones resultantes se le llama un campo de fuerzas. Así, un campo de fuerzas parametrizado para una clase específica de moléculas, por ejemplo proteínas, solo tendrá la relevancia al describir otras proteínas.

Una parte importante del estudio por métodos computacionales se dedica a la determinación de la estructura electrónica de la molécula o de un complejo molecular. En los métodos ab-initio la estructura electrónica se determina al resolver la ecuación de Schrödinger independiente del tiempo.

Los métodos ab initio tienen la ventaja de que es posible hacerlos converger a la solución exacta, cuando todas las aproximaciones son suficientemente pequeñas en magnitud. Esta convergencia, sin embargo, normalmente no es monótona y algunas veces el cálculo más pequeño da los mejores resultados para las mismas propiedades. La desventaja de los métodos ab initio es su costo. Con frecuencia toman una cantidad enorme de tiempo de cómputo, de memoria o espacio en el disco duro. El tiempo de cálculo con el método HF es proporcional a N^4 (siendo N el número de las funciones base), es decir, al duplicar el número de las funciones, éste tardará 16 veces más tiempo. Los cálculos correlacionados escalan todavía más (de éstos el método correlacionado DFT es el más económico).

Las clases de cálculos más usados de los métodos ab initio son:

- Hartree-Fock
- Møller-Plesset
- Teoría del Funcional de la Densidad
- Campo autoconsistente multi configuracional (MCSCF)
- Clústeres Acoplados
- Monte Carlo Cuántico

3.1. Formalismo Mecánico Cuántico para las moléculas

La Mecánica Cuántica es la descripción matemática correcta del comportamiento de los electrones, por tanto, de la química. Dos formulaciones equivalentes han sido planteadas, la de Schrödinger (Ecuación 3.1) es la base de la mayoría de los métodos computacionales existentes.

$$\hat{H}\Psi(r, R) = E\Psi(r, R) \quad (3.1)$$

Donde \hat{H} es el operador Hamiltoniano, Ψ la función de onda y E la energía del sistema. En lenguaje matemático, Ψ es conocida como autofunción o función propia y E se nombra autovalor o valor propio. El operador y la función propia pueden ser una matriz y un vector respectivamente, pero no siempre ocurre así.

Para una molécula de n electrones y N núcleos el operador Hamiltoniano se compone de:

$$\hat{H} = T_{el} + T_{nucl} + V_{nucl,rl} + V_{el,el} + V_{nucl,nucl} \quad (3.2)$$

Dónde:

T_{el} → Operador de energía cinética de los electrones.

T_{nucl} → Operador energía cinética de los nucleos.

$V_{nucl,rl}$ → Potencial de atracción entre los electrones y los nucleos.

$V_{el,el}$ → Potencial de repulsión entre los electrones.

$V_{nucl,nucl}$ → Potencial de repulsión entre nucleos.

La función de onda, dependiente de las coordenadas de los electrones y los núcleos de la molécula, es una descripción probabilística del comportamiento de los electrones. Si se desean obtener soluciones físicamente relevantes de la ecuación de Schrödinger, la función debe ser continua, univaluada, normalizable y antisimétrica con respecto al intercambio de dos electrones.

En la aproximación de Born-Oppenheimer (1927), se plantea que cual sea el estado, los grados de libertad de los electrones y los de los iones se pueden tratar de forma independiente.

De este modo se elimina el difícil problema del cálculo de la interacción entre electrones e iones en movimiento. Entonces, la ecuación de Schrödinger para el movimiento electrónico es:

$$\hat{H}_{el}(r, R)\Psi_{el}(r) = E_{el}(R)\Psi_{el}(r) \quad (3.3)$$

Por tanto, la energía electrónica total cuando los núcleos se encuentran fijos E_{tot} viene dada por la suma de la energía electrónica E_{el} y el término de las repulsiones internucleares $V_{nucl,nucl}$:

$$E_{tot} = E_{el} + \sum_{A=1}^N \sum_{B,A}^N V_{AB} \quad (3.4)$$

Aunque la aproximación de Born-Oppenheimer reduce considerablemente la complejidad de la ecuación de Schrödinger, esta se mantiene en extremo complicada, debido a las interacciones electrón-electrón. La variante más utilizada es recurrir a métodos aproximados de los cuales el método variacional es uno de los más utilizados. El método consiste en proponer una función de onda de prueba aproximada para el estado objeto de estudio, la cual tiene parámetros variacionales encargados de determinar el valor mínimo del funcional de la energía:

$$E = \frac{\langle \Psi | H | \Psi \rangle}{\langle \Psi | \Psi \rangle} \quad (3.5)$$

Donde la elección de la función de prueba influye en la precisión del resultado obtenido.

La aproximación de Hartree-Fock, también nombrada método del campo autoconsistente (self-consistent field, SCF) es la aproximación más frecuente para elegir la función de prueba basada en el uso de un determinante de Slater y se varían las funciones monoeléctricas.

Puede ser restringido o no restringido, en dependencia de la construcción de los orbitales de Slater. Roothaan y Hall introdujeron en el formalismo la aproximación de tomar los orbitales moleculares (OMs) como Combinación Lineal de Orbitales Atómicos (OM-CLOA):

$$\Psi_k = \sum_{r=1}^n \phi_r C_{rk} \quad (3.6)$$

También llamados funciones de base. La aproximación OM-CLOA tiene como ventaja que ofrece una simplificación matemática y la descripción de las propiedades moleculares en términos de contribuciones atómicas, lo que da una referencia espacial conveniente a la geometría de cada molécula.

Al aplicar la aproximación de OM-CLOA se obtienen las ecuaciones de Roothaan:

$$\sum_{t=1}^m (F_{rt} - \varepsilon_k S_{rt}) C_{tk} = 0, r = 1, 2, \dots, m \quad (3.7)$$

En la ecuación (3,7), m es el número de funciones de base atómicas, S_{rt} son los elementos de la matriz de superposición y F_{rt} son los elementos de la matriz de Fock.

Debido a la dependencia del operador de Fock respecto a sus funciones propias, las ecuaciones de HFR no son lineales y se resuelven iterativamente mediante el procedimiento del campo autoconsistente (SCF).

La principal dificultad en la solución de las ecuaciones de Roothaan es la evaluación del gran número de integrales bielectrónicas que incrementan la dimensión de las matrices asociadas a estas ecuaciones, aumentando la complejidad matemática del problema. Esto ha provocado la división de los métodos químico-cuánticos de cálculo en dos grupos:

- a) *ab initio*: Estos resuelven exactamente las ecuaciones de Roothaan y calculan todas las integrales que surgen de estas ecuaciones. Consumen largos tiempos de cómputo y el tamaño de las moléculas a calcular depende principalmente de las facilidades de cálculo de que se dispongan.
- b) *Semiempíricos*: Estos se desarrollan bajo el mismo formalismo que los *ab initio*, basándose en parámetros físicos como la energía de ionización.

3.2. Mecánica Molecular

La Mecánica Molecular (MM) es un método de aproximación que se utiliza para modelar el comportamiento de la materia y utiliza la mecánica Newtoniana como herramienta para modelar un sistema molecular. La MM parte de la suposición fundamental de que la materia consiste de átomos a los cuales se les puede considerar como partículas puntuales (dotadas de carga efectiva) interaccionando unas con otras mediante enlaces que se asemejan a resortes. Bajo esta suposición la energía potencial de una colección de átomos, puede ser definida para cada conjunto de posiciones.

La aproximación de la MM se aplica ampliamente para refinamientos de la estructura molecular en simulaciones de Dinámica Molecular o de Monte Carlo. A partir de estas técnicas se pueden calcular los detalles del sistema molecular considerado, como son: la estructura en el equilibrio, el espectro vibracional, las propiedades termodinámicas, la ecuación de estado, las razones de reacción, etc.

El método de MM se basa en la aproximación de Born-Oppenheimer, que se utiliza comúnmente en la mecánica cuántica, esta establece que:

“La ecuación de Schrödinger para una molécula puede ser separada en dos partes, una de las cuales describe el movimiento de los electrones y otra el movimiento de los núcleos, así que estos dos movimientos pueden ser considerados independientes.”

La superficie de Born-Oppenheimer es la "superficie" multidimensional que describe la energía de la molécula en términos de las posiciones de los núcleos, en mecánica molecular usualmente se le llama: superficie de energía potencial (PES).

En la aproximación de la MM, los átomos se consideran como partículas puntuales, como ya se mencionó anteriormente; Por lo tanto, el átomo se considera como una partícula de forma esférica de radio r y con una carga neta q .

La MM introduce una simple expresión algebraica para determinar la energía total del sistema. Las funciones de onda o las densidades electrónicas no se utilizan. Las constantes de la expresión se determinan,

en su totalidad, a partir de datos espectroscópicos o cálculos ab initio. Al conjunto de ecuaciones con sus respectivas constantes se le conoce como Campo de Fuerza.

La suposición fundamental de la MM es que todos los parámetros son transferibles, o sea, la "sanción" energética asociada con un movimiento molecular en particular, será la misma para todas las moléculas.

3.3. Componentes de la energía potencial en un Campo de Fuerzas

Las interacciones entre los átomos de la molécula son descritas por interacciones tipo oscilador armónico, "resortes", (representando enlaces químicos) y fuerzas de van der Waals. El Potencial de Lennard-Jones es mayormente usado para describir las fuerzas de van der Waals. Las interacciones electrostáticas son calculadas por la Ley de Coulomb. A los átomos se les asignan coordenadas en el espacio cartesiano o en coordenadas internas, y también se les pueden asignar velocidades al realizar simulaciones dinámicas. Las velocidades atómicas están relacionadas a la temperatura del sistema, una cantidad macroscópica.

Las ecuaciones clásicas, que componen la expresión energética, describen varios aspectos de la molécula como son: la vibración de los enlaces, sus plegamientos, las torsiones, interacciones electrostáticas, fuerzas de Van der Waals y enlaces de hidrógeno. Los Campos de Fuerza se diferencian en el número de términos, la complejidad de ellos y la forma en que fueron obtenidas las constantes.

La expresión matemática completa que describe la interacción entre los átomos de la molécula se conoce como una Función Potencial y está relacionada a la energía interna del sistema, una cantidad termodinámica igual a la suma de las energías potencial y cinética.

La Función Potencial, calcula la energía potencial molecular como una suma de cantidades de energía que describen la desviación del largo de los enlaces, los ángulos de enlace y los ángulos de torsión fuera de los valores de equilibrio, mas cantidades para los pares de átomos no enlazados, ayudando a describir las interacciones de van der Waals y las electrostáticas.

3.3 Componentes de la energía potencial en un Campo de Fuerzas

Los parámetros de los Campos de Fuerza de MM se refieren a los valores que toman las constantes de fuerza y los valores geométricos en el equilibrio. La calidad del campo de fuerzas depende tanto de las funciones que describen la energía como de sus parámetros. Esta parametrización se realiza en varias etapas:

- a) Se determinan los valores ideales y la penalización energética por la desviación respecto de estos valores, mediante el uso de la información experimental o cálculos ab initio.
- b) Este conjunto de parámetros iniciales conocido como conjunto de pruebas sirve para minimizar las desviaciones de las propiedades moleculares predichas por los cálculos de MM, comparándolas con los datos experimentales o los resultados de cálculos de ab initio.

El conjunto de parámetros constituye parte de Campo de Fuerzas:

- Cargas eléctricas.
- Angulo de torsión.
- Distancia de enlace.
- Angulo de enlace.
- Constantes de fuerza.
- Parámetros de van der Waals

Este conjunto de parámetros define la forma de la Función Potencial. En términos de estos parámetros, la Función Potencial queda expresada de la siguiente manera:

$$V = V_{ten} + V_{flex} + V_{tor} + V_{vdw} + V_{el} + V_H \quad (3.8)$$

Dónde:

$$V_{bond} = V_{ten} + V_{flex} + V_{tor} \quad (3.9)$$

$$V_{non,bond} = V_{vdw} + V_{el} + V_H \quad (3.10)$$

Tal que:

V_{ten} =Potencial de tensión o estiramiento.

V_{flex} =Potencial de curvatura o flexión.

V_{tor} =Potencial de torsión.

V_{vdw} =Potencial de van der Waals.

V_{el} =Potencial electrostatico.

V_H =Interacciones no enlzantes.

Algunos Campos de Fuerzas consideran solo algunos términos, las interacciones de los términos que no se incluyen, se aproximan en otros términos a través del ajuste de los parámetros.

3.3.1. Potencial de tensión o estiramiento del enlace

El enlace entre los átomos se modela como dos esferas unidas por un resorte, por lo tanto el potencial para el estiramiento del enlace o tensión, no es más que el potencial de un simple oscilador armónico.

$$V_{ten}(l_{ij}) = \frac{1}{2}K_{IJ}(l_{ij} - l_{ij}^0)^2 \quad (3.11)$$

Donde l_{ij}^0 =longitud de equilibrio, K_{IJ} =Constante de fuerza, el termino $K_{IJ}(l_{ij} - l_{ij}^0)$ representa la vibración del enlace.

Puesto que los átomos son considerados como partículas puntuales, la energía potencial total V_{ten} de la tensión del enlace se toma como la suma de las energías potenciales $V_{ten,ij}$ para la tensión de cada enlace de átomos:

$$V_{ten} = \sum_{1,2} V_{ten,ij} \quad (3.12)$$

Donde la suma se extiende a todos los pares de átomos enlazados entre sí. Aquí las letras mayúsculas I y J denotan los tipos de átomos de los átomos i y j de la molécula, la constante de fuerza K_{IJ} y la longitud de referencia l_{ij}^0 dependen de los tipos de átomos de los dos átomos que forman el enlace.

3.3.2. Potencial de curvatura o flexión

En espectroscopia vibracional se observa que para pequeños desplazamientos del punto de equilibrio, la variación de la energía asociada con las deformaciones del ángulo de enlace son bien modeladas por expansiones de polinomios, de esta manera la función del campo de fuerzas para un ángulo de flexión es:

$$V_{fle}(\theta_{ijk}) = \frac{1}{2}K_{ijk}(\theta_{ijk} - \theta_{ijk}^0)^2 \quad (3.13)$$

Donde θ_{ijk} es el valor del ángulo entre los enlaces ij y jk (note que en un Campo de Fuerzas, un enlace es definido como un vector que conecta dos átomos), las constantes de fuerza ahora en subíndices ijk son para enfatizar que dependen de los tres átomos, θ_{ijk}^0 es el ángulo de enlace de referencia y el término $K_{ijk}(\theta_{ijk} - \theta_{ijk}^0)^2$ representa la distorsión angular.

3.3.3. Potencial de torsión

El ángulo de torsión ω (ángulo diedro) en una molécula se define en términos de los cuatro átomos ABCD como se observa en la Figura 3.1 (b). El ángulo de torsión, con respecto al enlace central BC, es el ángulo entre los enlaces AB y CD cuando ellos se proyectan en un plano perpendicular al enlace BC (proyección de Newman). Más claramente se ve el ángulo formado entre el semiplano RST y el semiplano UXS como se ve en la Figura 3.1 (a).

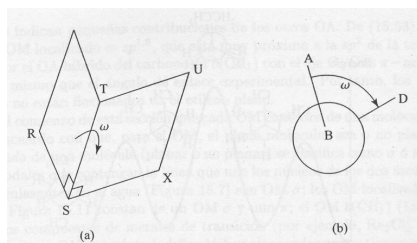


Figura 3.1: Ángulo de torsión ω .

Se escoge el intervalo de los ángulos de torsión como $0 \leq \omega \leq 360$. Por definición una rotación a favor de las agujas del reloj del enlace AB proyectado de frente, para unirse al átomo D, corresponde a un ángulo positivo.

Los ángulos de torsión (Diedros) son periódicos, sin embargo la energía mínima para muchas torsiones es para el arreglo antiperiplanar, es decir $\omega = \pi$

Como la torsión es periódica, también la energía potencial de torsión lo es, de tal manera que la función de energía potencial como una expansión de la función periódica en series de Fourier tiene una forma general de Campo de Fuerza:

$$V_{tor}(\omega_{ijkl}) = \frac{1}{2} \sum_{n_{ijkl}} V_{(n_{ijkl})} [1 + (-1)^{n+1} \cos(n\omega_{ijkl} + \Psi_{n_{ijkl}})] \quad (3.14)$$

Donde el valor de los términos de amplitud V_n y el conjunto de valores de periodicidad $\{n\}$ incluidos en la suma son específicos a los enlaces de torsión $ijkl$ (note que borramos un valor particular de n del conjunto evaluado equivalente al término de amplitud para el valor de n igual a cero).

La energía potencial de torsión total V_{tor} se toma como suma de términos $V_{tor,ijkl}$ para todos los pares de átomos 1,4:

$$V_{tor,ijkl} = \sum_{1,4} V_{tor,ijkl} \quad (3.15)$$

3.3.4. Interacciones no-enlazantes

Las fuerzas de atracción que retienen una molécula individual junta (enlace covalente) son conocidas como fuerzas de atracción intramolecular. Estas fueron descritas por la MM a través de los términos de la energía potencial mencionados anteriormente. Dentro de estos, la interacción

3.3 Componentes de la energía potencial en un Campo de Fuerzas

no-enlazante se realiza entre átomos de la molécula 1:4 en adelante. Este mismo tipo de fuerzas se utilizan para la interacción intermolecular que se dan entre una molécula y las moléculas circundantes.

Los potenciales intermoleculares en la mayoría de los diferentes Campos de Fuerzas se presentan con ecuaciones de Van der Waals (atractiva y repulsiva).

La repulsión entre átomos o moléculas que no están enlazadas tiene energía muy positiva (repulsiva) a pequeñas distancias, tienen un mínimo negativo (atractivo) a distancias cuando los dos átomos o moléculas tocan las nubes electrónicas. Pero a distancias suficientemente pequeñas, la fuerza es completamente repulsiva. Se está seguro que la interacción repulsiva resulta del principio de exclusión de Pauli, aunque la forma exacta de la función de potencial que se utiliza para calcular la energía de repulsión está basada en la experiencia.

3.3.5. Potencial de van der Waals

Las interacciones entre átomos que no están enlazados uno al otro o a átomos comunes son generalmente referidas como interacciones de Van der Waals. Estas moléculas habitualmente son muy complicadas, pues muestran muchos grados de libertad en el cual las moléculas se relajan. El término total de interacción de Van der Waals se toma como la suma de todas las interacciones posibles de pares de átomos 1,4, 1,5, 1,6, . . . :

$$V_{vdw} = \sum_{1 \geq 4} V_{vdw,ij} \quad (3.16)$$

Donde los átomos i y j están en una relación 1,4 o mayor. Las interacciones de van der Waals 1,2 y 1,3 y las interacciones electrostáticas se consideran incluidas implícitamente en los parámetros de tensión de enlace y de flexión de enlace. Cada término de van der Waals de un par $V_{vdw,ij}$ es la suma de una atracción debida a fuerzas de dispersión de London y un término de repulsión debido principalmente a la repulsión de Pauli. Algunos campos de fuerzas toman a $V_{vdw,ij}$ como un potencial de Lennard-Jones que se puede escribir de dos formas equivalentes:

$$V_{vdw,ij} = \varepsilon_{IJ} \left[\left(\frac{R_{ij}^*}{R_{ij}} \right)^{12} - 2 \left(\frac{R_{IJ}^*}{R_{IJ}} \right)^6 \right] = 4\varepsilon_{IJ} \left[\left(\frac{\sigma_{IJ}}{R_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{IJ}}{R_{ij}} \right)^6 \right] \quad (3.17)$$

Donde R_{ij} es la distancia entre los átomos i y j , el parámetro de profundidad del pozo ε_{IJ} es el valor de $V_{vdw,ij}$ en el mínimo de la curva de interacción, el parámetro R_{IJ}^* da el valor de R_{IJ} en el mínimo de $V_{vdw,ij}$ y el parámetro alternativo σ_{IJ} es la distancia a la que $V_{vdw,ij}$ es cero.

3.3.6. Potencial electrostático

El término electrostático V_{el} se toma comúnmente como la suma de interacciones electrostáticas incluyendo todos los pares de átomos excepto los pares 1,2 y 1,3:

$$V_{el} = \sum_{1 \geq 4} V_{el,ij} \quad (3.18)$$

Donde los átomos i y j tienen una relación 1,4 o mayor $V_{el,ij}$ se calcula asignando cargas atómicas parciales Q_i a cada átomo, y usando la expresión de la energía potencial coulombiana.

$$V_{el,ij} = \frac{Q_i Q_j}{\varepsilon_r R_{ij}} \quad (3.19)$$

Donde ε_r es la constante dieléctrica.

La base de datos empleada en la adquisición de los parámetros es crucial para el éxito del método.

Las energías calculadas por MM son normalmente energías conformacionales, su valor no tiene necesariamente significado físico y no es comparable entre los distintos Campos de Fuerza. El método predice de una forma confiable la diferencia de energía entre las conformaciones, aunque las energías totales no son equivalentes a las de los cálculos ab initio o a los calores de formación de los programas semiempíricos.

A pesar de su velocidad, muchas propiedades químicas no se encuentran definidas en el método. Los electrones no son explícitamente incluidos,

3.3 Componentes de la energía potencial en un Campo de Fuerza

por lo que no se pueden estudiar procesos electrónicos como las excitaciones y reacciones químicas.

La Mecánica Molecular no se puede utilizar para estructuras muy alejadas del equilibrio, como las estructuras de transición.

Los Campos de Fuerza más manejados en estudios de biomoléculas son AMBER, GROMACS, MM2, MM3, MM4, Debido a su exactitud, estos últimos son ampliamente utilizados para el estudio de moléculas orgánicas. Los campos presentan de cinco a seis términos de valencia, uno de los cuales es electrostático y de uno a nueve términos cruzados. Existen muchas variantes, en particular del MM2, entre ellas se encuentran MM+ y MMX. No existen reportes previos del uso de métodos de MM como función de minimización de energía en la metodología MMH.

3.3.7. Enlace de Hidrogeno

Para parejas de átomos que pueden tener enlace de hidrógeno entre ellos, los Campos de Fuerzas normalmente modifican la interacción de van der Waals introduciendo términos especiales, pero muchos Campos de Fuerza no contienen términos especiales para el enlace de hidrógeno, y recaen en los términos electrostáticos y de van der Waals para producir el enlace de hidrógeno.

Los trabajos de VI. Poltev y colaboradores [13] evidencian que la utilización de la Mecánica Molecular como método de minimización energética brinda resultados cualitativos y cuantitativos comparables a los cálculos mecánico-cuánticos de alto nivel de exactitud (abinitio) tales como HF, y DFT, que emplee términos empíricos de dispersión. El campo de fuerza (POLTEV) utilizado en estas investigaciones fue desarrollado, parametrizado y refinado, por el autor. Está compuesto por un término de Coulomb y dos términos de van der Waals, donde se destaca el uso del potencial Lenard-Jones 10-12 para describir las interacciones por puentes de hidrógeno, el cual se muestra a continuación:

$$V_{hb}(r_{ij}) = A_{ij}^{12}r_{ij}^{-12} - B_{ij}^{10}r_{ij}^{-10} \quad (3.20)$$

La función $V_{hb}(r_{ij})$ es usada en lugar de $V_{vdw}(r_{ij})$ para cada par de átomos capaces de formar HB entre ellos. La acumulación de la energía

no-enlazante es por lo tanto obtenida de forma normal por la suma sobre los pares de átomos y una doble cuenta de las contribuciones de van der Waals es evitado convenientemente. Una aproximación de las componentes de HB se hace considerando el radio de hidrógeno en el HB igual a cero.

3.4. Optimización

En matemáticas, estadísticas, ciencias empíricas, ciencia de la computación, o economía, optimización matemática (o bien, optimización o programación matemática) es la selección del mejor elemento (con respecto a algún criterio) de un conjunto de elementos disponibles.

En el caso más simple, un problema de optimización consiste en maximizar o minimizar una función real eligiendo sistemáticamente valores de entrada (tomados de un conjunto permitido) y computando el valor de la función. La generalización de la teoría de la optimización y técnicas para otras formulaciones comprende un área grande de las matemáticas aplicadas. De forma general, la optimización incluye el descubrimiento de los "mejores valores" de alguna función objetivo dado un dominio definido, incluyendo una variedad de diferentes tipos de funciones objetivo y diferentes tipos de dominios.

Un problema de optimización puede ser representado de la siguiente forma:

Dada f una función $f:A \rightarrow \mathfrak{R}$, donde A es un conjunto de números reales, encontrar un elemento $x_0 \in A$ tal que $f(x_0) \leq f(x)$ para todo $x \in A$ ("minimización") o tal que $f(x_0) \geq f(x)$ para todo $x \in A$ ("maximización").

Tal formulación es llamada un problema de optimización o un problema de programación matemática. Muchos problemas teóricos y del mundo real pueden ser modelados en este esquema general. Problemas formulados usando esta técnica en los campos de física se refieren a esta técnica como minimización de la energía, donde el valor de la función f representa la energía del sistema que está siendo modelado.

3.4.1. Condiciones necesarias de Optimalidad

Uno de los teoremas de Fermat asegura que los óptimos de los problemas irrestrictos son encontrados en los puntos estacionarios, donde la primera derivada o el gradiente de la función objetivo es cero. De forma más general, ellos pueden ser encontrados en los puntos críticos, donde la primera derivada o el gradiente de la función objetivo es cero o está indefinido, o en la frontera del conjunto de elección. Una ecuación (o conjunto de ecuaciones) indicando que la(s) primera(s) derivada(s) es (son) igual(es) a cero en un óptimo interior se llama una condición de primer orden o un conjunto de condiciones de primer orden. Los óptimos de los problemas con restricciones de desigualdad son en cambio encontrados mediante el método de los multiplicadores de Lagrange. Este método computa un sistema de desigualdades llamado Condiciones de Karush–Kuhn–Tucker o condiciones de holguras complementarias, las cuales se usan entonces para calcular el óptimo.

3.4.2. Condiciones suficientes de Optimalidad

Mientras la prueba de la primera derivada identifica los puntos que pueden ser extremos, esta prueba no distingue si un punto es mínimo, máximo, o ninguno de los dos. Cuando la función objetivo es dos veces diferenciable, estos casos pueden ser distinguidos estudiando la segunda derivada o la matriz de las segundas derivadas (llamada matriz Hessiana) en problemas irrestrictos, o la matriz de las segundas derivadas de la función objetivo y las restricciones llamadas la frontera Hessiana en problemas restrictos.

Así pues, los puntos críticos pueden ser encontrados detectando los puntos donde la derivada o gradiente de la función objetivo es cero (es decir, los puntos estacionarios), estos puntos críticos pueden ser clasificados usando la concreción de la matriz Hessiana.

Condiciones de segundo orden:

- a) Si la Hessiana es definida positiva en un punto crítico, entonces el punto es un mínimo local.
- b) Si la Hessiana es definida negativa, entonces el punto es un máximo local.

c) Si es indefinida, entonces el punto es algún tipo de silla.

Si un candidato a solución satisface las condiciones de primer orden y las condiciones de segundo orden también, es suficiente para establecer, al menos, optimalidad local.

Los problemas restringidos pueden con frecuencia ser transformados en problemas irrestringidos con ayuda de los multiplicadores de Lagrange. La relajación Lagrangiana puede también proveer soluciones aproximadas a difíciles problemas restringidos.

Cuando la *función objetivo* es convexa, entonces cualquier mínimo local será también un mínimo global. Existen técnicas numéricas eficientes para minimizar funciones convexas, por ejemplo los métodos de punto interior.

3.4.3. Técnicas de optimización computacional

Para resolver problemas, los investigadores pueden usar algoritmos que terminen en un número finito de pasos, o métodos iterativos que convergen a una solución (en alguna clase específica de problemas), o heurísticas que pueden proveer soluciones aproximadas a algunos problemas (aunque sus iteraciones no convergen necesariamente). Los métodos iterativos usados para resolver problemas de programación no lineal difieren según lo que ellos evalúen: Hessianas, gradientes, o solamente valores de función.

Evaluando Hessianas (H) y gradientes (G) se mejora la velocidad de convergencia, sin embargo tales evaluaciones aumentan la complejidad computacional (o costo computacional) de cada iteración. En algunos casos, la complejidad computacional puede ser excesivamente alta.

Un importante criterio para los optimizadores es justo el número de evaluaciones de funciones requerido, como este con frecuencia es de por sí un gran esfuerzo computacional, usualmente mucho más esfuerzo que el del optimizador en sí, ya que en su mayoría tiene que operar sobre $n - variables$. Las derivadas proveen información detallada para los optimizadores, pero son aún más costosas de calcular, por ejemplo aproximando el gradiente toma al menos $n+1$ evaluaciones de funciones. Para la aproximación de las segundas derivadas (agrupadas en la matriz

Hessiana) el número de evaluaciones de funciones es de orden n^2 . El método de Newton requiere las derivadas de Segundo orden, por lo tanto por cada iteración el número de llamadas a función es de orden n^2 , pero para el optimizador de un gradiente puro más simple es de orden n . Sin embargo, los optimizadores de gradiente necesitan usualmente más iteraciones que el algoritmo de Newton.

Algunos de estos métodos son:

Métodos que evalúan Hessianas (o aproximan Hessianas, usando diferencias finitas):

- Método de Newton: Programación secuencial cuadrática: un método de Newton basado en problemas restringidos de pequeña-mediana escala. Algunas versiones pueden manejar problemas de gran dimensión.

Métodos que evalúan gradientes o aproximan gradientes usando diferencias finitas (o incluso subgradientes):

- Métodos Quasi-Newton: métodos iterativos para problemas medianos-grandes (ejemplo $N \leq 1000$).
- Métodos de gradiente conjugado: métodos iterativos para problemas grandes. (En teoría, estos métodos terminan en un número finito de pasos con funciones objetivo cuadráticas, pero esta terminación finita no se observa en la práctica en computadoras de precisión finita.).
- Métodos de punto interior: esta es una gran clase de métodos para la optimización restringida. Algunos métodos de punto interior usan solamente información del subgradiente, y otros requieren la evaluación de las Hessianas.
- Descenso del gradiente (alternativamente, descenso pronunciado o ascenso pronunciado): un método lento de interés teórico e histórico, el cual ha sido renovado para encontrar soluciones aproximadas de problemas enormes.
- Método del subgradiente: un método iterativo para grandes funciones de Lipschitz localmente usando gradientes generalizados.

Métodos que evalúan solamente valores de funciones: si un problema es continuamente diferenciable, entonces los gradientes pueden ser aproximados usando diferencias finitas, en tal caso puede ser usado un método basado en gradiente.

- Métodos de interpolación.
- Métodos de búsqueda de patrones, los cuales tienen mejores propiedades de convergencia que la heurística de Nelder-Mead.

Otro método de optimización muy útil consiste en la exploración del área de energía potencial de un sistema molecular (compuesto por una molécula central y otra(s) dispuesta(s) de forma aleatoria a su alrededor) y la posterior búsqueda del conjunto de mínimos locales. Este procedimiento permite conocer, a partir de la detección del mínimo más profundo, la geometría más probable del sistema.

La forma en que la energía de un sistema molecular varía con pequeños cambios en su estructura se describe como una hipersuperficie de energía potencial (HEP). Esta hipersuperficie es descrita por una serie de puntos estacionarios, llamados críticos, que corresponden a estructuras moleculares de interés químico. Por ello es recomendable explorar la HEP con vistas a encontrar aquellos arreglos moleculares que, con sus geometrías y energías respectivas, pueden formar un grupo de los estados significativos más importantes para las propiedades termodinámicas del sistema completo.

3.5. Metodología de trabajo

Básicamente lo que hicimos fue estudiar la interacción entre dos moléculas de la misma especie (teofilina y teobromina) mediante el método de la MM aplicando métodos usados para las bases de los ácidos nucleicos.

Usando el método de la MM basado en el potencial de Poltev, formamos la estructura molecular de la teofilina y de la teobromina según la energía óptima encontrada mediante el potencial de Poltev. Según el método de la MM cada una de estas estructuras moleculares la podemos ver como una molécula.[13,14]

Colocamos una de molécula de teofilina (teobromina) en un punto, al cual tomamos como el origen de un sistema coordinado de tres dimensiones, y se colocó una segunda molécula de teofilina (teobromina), esta segunda molécula es desplazada y rotada por un factor aleatorio, esto usando el programa Ran base 6, el cual usa la metodología Stepend descend; Esto para formar parejas de teofilina (teobromina), y de esta forma obtener las posibles configuraciones de dímeros de estas moléculas.

De esta forma las interacciones responsables de la asociación se deben a la formación de puentes hidrogeno (pareamiento) o asociaciones π entre anillos (apilamiento o base stacking). Esta reducción de la estructura no solo simplifica el cálculo al disminuir el número de átomos a optimizar, sino que además reduce el número de barreras rotacionales presentes. Posteriormente para minimizar la energía usamos el programa Kaspar, el cual usa el método gradiente conjugado, del cual se habló en la sección anterior. De esta manera obtuvimos los dímeros más estables. Para obtener la imagen de los dímeros encontrados usamos el programa HyperChem. Creamos algunos otros programas usando el lenguaje de fortran, los cuales nos ayudaron en el análisis de las características de los dímeros, como la configuración del dímero, el traslape y la magnitud del momento dipolar. Para encontrar la dirección del vector momento dipolar se hizo el cálculo a mano.

Capítulo 4

Configuraciones de los dímeros de teofilina y teobromina

Al obtener los resultados de la búsqueda de las posibles configuraciones de los dímeros de teofilina y teobromina, usando el método ya mencionado en la sección 3.5 (metodología de trabajo), solo consideramos en este trabajo los dímeros apilados (stacking) y los planos (enlaces de hidrogeno), no se consideraron los dímeros simétricos con respecto al plano de las moléculas (como en un espejo), ni tampoco los dímeros no planares.

4.1. Cargas Parciales para las moléculas de Teofilina y Teobromina

Como ya se mencionó en la metodología, las cargas electricas parciales (cargas efectivas) situadas en los núcleos de la molécula, son un parámetro de los Campos de Fuerzas (CF), el campo de fuerzas que utilizamos en este trabajo emplea el Potencial de Poltev, por lo tanto para calcular las cargas electricas parciales se utilizan programas que aplican métodos semiempíricos elaborados para el cálculo de las bases de los ácidos nucleicos. Con este método las cargas se ajustan a los momentos dipolares experimentales de las bases de los ácidos nucleicos. Como las moléculas derivadas de las metilxantinas (cafeína, teofilina y teobromi-

na) tienen una estructura semejante a las purinas como lo es la adenina y la guanina, son aplicables estos métodos para obtener las cargas.

En un trabajo anterior [14] se calcularon las cargas eléctricas parciales de las moléculas de teofilina y teobromina. A continuación en la Figura 4.1 se muestran las moléculas de teofilina y teobromina con sus cargas parciales respectivamente.

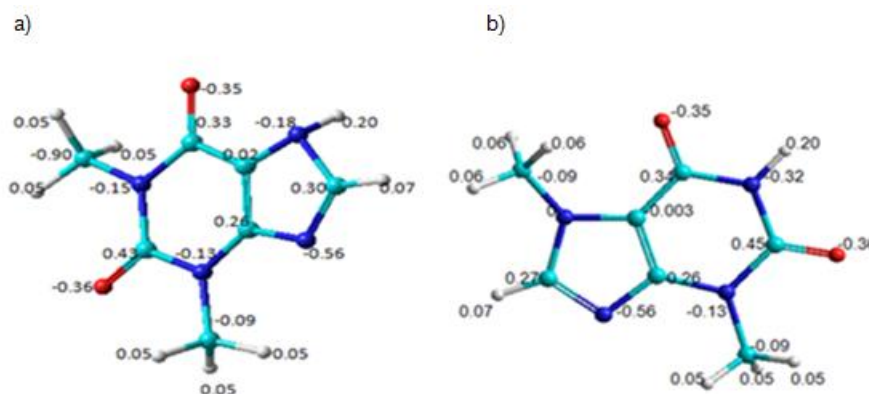


Figura 4.1: Cargas parciales en terminos de la carga del electrón de a) Teofilina y b) Teobromina.

4.2. Características geométricas de los dímeros obtenidos para teofilina y teobromina

De los resultados obtenidos, pudimos catalogar los dímeros según las siguientes características:

- Configuraciones Planas: Donde las dos moléculas forman uno o dos enlaces de hidrógeno y ambas moléculas se encuentran en un plano.
- Configuraciones Apiladas (Stacking): Donde no se forman enlaces de hidrogeno sino que existen interacciones de tipo $\pi - \pi$, ordenándose las moléculas una sobre otra.
- Configuraciones no-planares: En estas configuraciones se forman ángulos entre los planos de las moléculas que varían desde los 60°

a posiciones casi perpendiculares 90° , además de que puede formar un enlace de hidrogeno.

A continuación se muestra un ejemplo del dímero de teobromina en su configuración plana, apilada y no planar

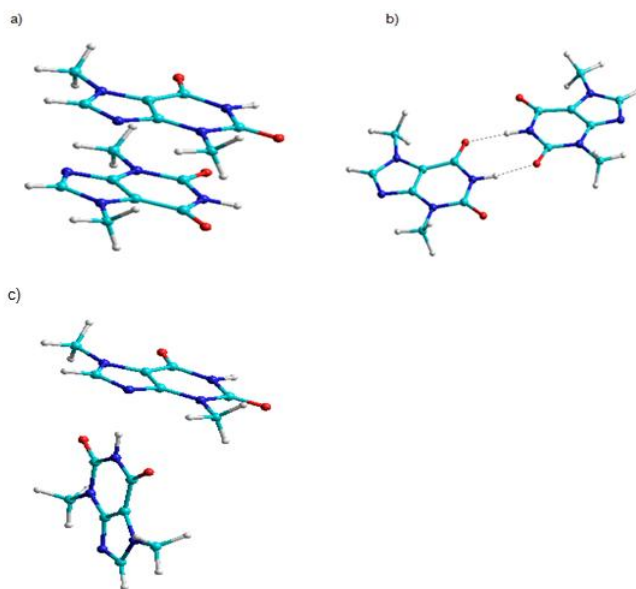


Figura 4.2: Dímeros de teobromina en configuración a) apilada b) plana y c) no-planar.

En el análisis de los resultados obtenidos, observamos que existe una variación en la posición en que está colocada una de las moléculas con respecto a la otra en el dímero de teobromina y teofilina, según sea el caso. Las posiciones en la interacción stacking de las moléculas pueden ser catalogadas en dos grupos:

- a) Paralelas (cara-espalda): Para describir este grupo, consideremos dos moléculas de teobromina superpuestas, a continuación una de las moléculas se desplaza hacia arriba (Dímero de teobromina), así los planos de ambas moléculas son paralelos. Si se gira una de las moléculas con respecto al plano de la molécula un ángulo θ tal que $0 \leq \theta \leq 30$, se tiene una posición cara-espalda.

- b) Anti-paralelas (cara-cara): Para llegar a esta posición, partiremos de los planos paralelos de ambas moléculas y bastara con girar una de las moléculas 180 grados con respecto a la otra molécula fija alrededor del plano de las moléculas.

En la Figura 4.3 se da un ejemplo de la configuración paralela y anti paralela de los dímeros de teobromina.

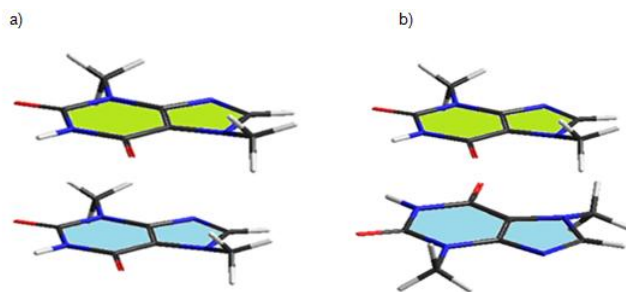


Figura 4.3: Dímeros de teobromina en su configuración a) paralela (cara-espalda), b) anti paralela (cara-cara).

Algunas de las propiedades moleculares de los dímeros que obtuvimos y que se mostraran en las tablas de resultados son: La distancia entre planos (distancia interplanar), el momento dipolar, el traslape y el ángulo entre dipolos.

A continuación daremos una definición de cada una de estas características para facilitar el análisis de los resultados.

- Distancia entre planos (Distancia interplanar): Se refiere a la distancia que hay entre cada uno de los planos que contienen a cada una de las moléculas de teobromina o teofilina.

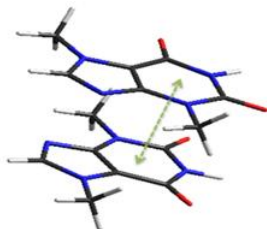


Figura 4.4: Distancia interplanar para en dímico de teobromina. La línea punteada señala la distancia entre los planos.

- Vector momento dipolar: La magnitud del momento dipolar para las moléculas de teofilina y teobromina se calcula a partir de la definición de momento dipolar, el cual depende de las cargas parciales de la molécula. Puesto que durante el cálculo de los mínimos de interacción las moléculas se mantienen rígidas y las cargas se consideran constantes, entonces la dirección y la magnitud del momento dipolar no cambia en los dímeros tanto apilados como planos.

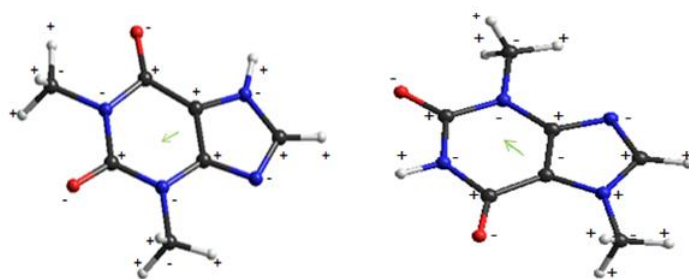


Figura 4.5: La flecha color verde representa el vector momento dipolar de la molécula de Teofilina (izquierda) y Teobromina (derecha)

- Angulo entre dipolos: Es el ángulo que hay entre el vector momento dipolar de una de las moléculas y el vector momento dipolar de la otra molécula, al proyectar una sobre el plano de la otra (Figura 4.6).

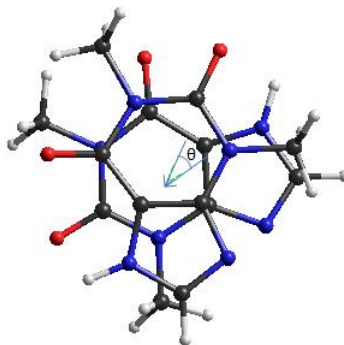


Figura 4.6: θ representa el ángulo entre cada de los vectores de momento dipolar de cada una de las moléculas del dímero de Teofilina (La magnitud del momento dipolar no se representa en esta figura, las líneas fueron extendidas para facilitar la visualización del ángulo entre dipolos)

- Traslape: Se refiere a la intersección en un plano común, entre los anillos de ambas moléculas del dímero. En la Figura 4.7 se muestra el traslape en un dímero de teobromina; como la molécula tiene dos anillos uno de 5 miembros y otro de 6, el traslape se separa entre el tipo de anillos y se describe al pie de la figura 4.7.

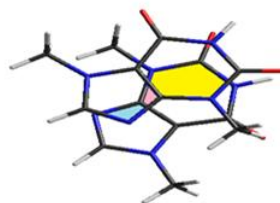


Figura 4.7: Traslape entre dos moléculas de teobromina (El color azul muestra el traslape entre los anillos 5-5, el color rosa muestra el traslape del anillo 5-6 y el color amarillo muestra el traslape entre los anillos 6-6).

4.3. Posibles Configuraciones de los dímeros de la molécula de Teobromina

4.3.1. Dímeros Planos de Teobromina

En la tabla 4.1 presentamos la energía de los dímeros planos de teobromina. Ordenados de menor a mayor energía.

Podemos observar que el valor de la energía para los dímeros en su configuración plana está en el intervalo de -10.40 a -6.12 kcal/mol, siendo el mínimo global de -10.40 kcal/mol con un ángulo entre dipolos de 70.57° y el mínimo local de mayor energía de -6.12 kcal/mol con un ángulo entre dipolos de 120.72° . La diferencia entre la menor y la mayor energía es de 4.28 kcal/mol.

	E	θ_p	d				
			O6-H1/N1	H1/N1-O2	H ₁ /N1 – O6	O2-H1/N1	N9-H1/N1
a	-10.40	70.57	1.91/2.92		1.91/2.91		
b	-10.09	66.69	1.90/2.91	1.90/2.91			
c	-10.08	22.97	1.91/2.91	1.91/2.91			
d	-9.99	139.50		1.91/2.91		1.91/2.91	
e	-9.31	51.53					1.91/2.92
f	-8.59	47.84					1.90/2.90
g	-6.99	117.35	1.90/2.91				
h	-6.97	21.84	1.90/2.91				
i	-6.20	54.29				1.90/2.91	
j	-6.12	120.72				1.90/2.91	

Tabla 4.1: Valores de la energía y parámetros geométricos de los posibles mínimos de interacción de los dímeros de teobromina en su configuración plana. E: Energía del mínimo en kcal/mol; θ_p : Ángulo entre los dipolos de las dos moléculas de teofilina ($^\circ$); d: distancia interatómica entre los átomos que forman los enlaces (Å).

Para los dímeros en su configuración plana además de la energía hay dos parámetros adicionales que se consideran, el ángulo entre dipolos y

la distancia interatómica del enlace de hidrogeno . La numeración de los atomos presentada en la tabla 4.1 corresponde con la que se presenta en el capitulo I, seccion 1.1. En la Figura 4.10 se muestran las estructuras de los mínimos de los dímeros planos de teobromina que corresponde con la tabla 4.1.

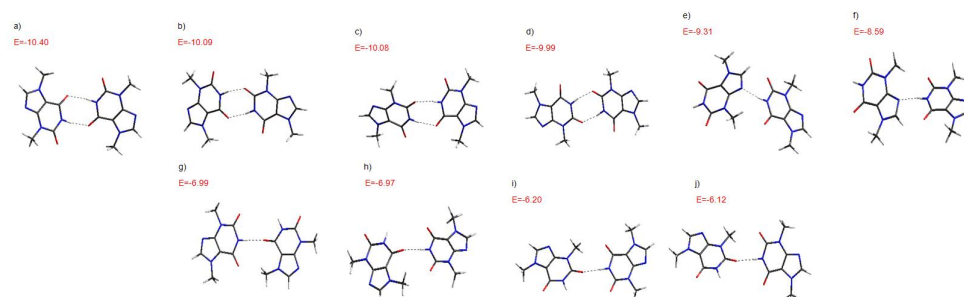


Figura 4.8: Dímeros en su configuración plana de teobromina. Los mínimos corresponden con la tabla 4.1.

La magnitud del momento dipolar para la teobromina que encontramos es de 3.40D, puesto que el momento dipolar depende de las cargas y durante el cálculo de los mínimos de interacción de las moléculas se mantienen rígidas y las cargas se consideran constantes, entonces la dirección y la magnitud del momento dipolar de cada una de las moléculas no cambia.

En un trabajo experimental reciente [16], se reporta la estructura cristalina de la teobromina, donde dos moléculas en la unidad asimétrica forman un dímero a través de enlaces de hidrógeno N- H \cdots O y uniones tipo carboxamida (Figura 4.9). Además se afirma que no existe información sobre polimorfos de teobromina a diferencia de la cafeína y Teofilina. En varios intentos de cristalización con diferentes disolventes / mezclas, no obtuvieron una nueva forma. En la figura 4.9 se presenta una cadena de las moléculas de teobromina con los enlaces mencionados.

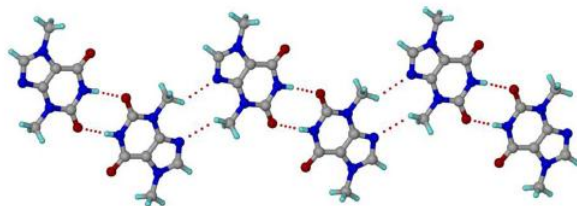


Figura 4.9: Dímeros enlazados de teobromina que forman una cadena con enlaces de hidrogeno $N-H \cdots O$ y $C-H \cdots N$.

La conformación observada en la estructura cristalina corresponde al mínimo d) de la figura 4.10. Los cálculos teóricos con método de Mecánica Molecular predicen que los mínimos en los cuales se forma enlace H con O6 es ligeramente mas favorable que O2. Sin embargo, en la estructura experimental se forma enlace con O2. En los cálculos de la referencia [15] no se considera el mínimo con los O6, y solo se presentan el mínimo c) y d).

4.3.2. Dímeros Apilados de Teobromina

En la tabla 4.2 se presentan los valores de energía de interacción de los mínimos más profundos (menor energía) y los parámetros geométricos de los dímeros de teobromina en configuración apilada. Los cuales están ordenados de acuerdo al valor de la energía, del menor al mayor.

	E	C	D	θ_p	T			
					51-52	51-62	61-52	61-62
a	-10.06	A	3.42	73.98	67.65	10.16	10.17	97.02
b	-9.95	P	3.44	179.97		26.20	26.20	58.11
c	-9.64	P	3.42	144.42	14.94	48.68	94.93	5.41
d	-9.59	P	3.40	66.54		2.76	34.80	65.95
e	-9.59	P	3.41	66.54		34.89		66.06
f	-9.24	A	3.48	178.71		10.66	10.70	99.60
g	-9.04	A	3.43	100.73	11.03	92.04	92.73	8.38
h	-8.79	A	3.43	126.61		95.04	94.93	26.16
i	-7.78	A	3.41	21.72	24.27	31.85		4.29
j	-6.29	P	3.50	2.84	2.28	62.57		12.07

Tabla 4.2: Valores de la energía y parámetros geométricos de las posibles configuraciones de los dímeros apilados de teobromina. E: Energía del mínimo en kcal/mol; C : Arreglo del mínimo donde A es Antiparalela y P es Paralela; D : Distancia interplanar (\AA); θ_p : Angulo entre dipolos de ambas moléculas de teobromina ($^\circ$); T: Traslape entre los anillos correspondientes de las moléculas de teofilina (%).

De la tabla 4.2 podemos ver que el mínimo global de los dímeros apilados de teobromina (mínimo a) tiene un valor de energía de interacción de -10.06 kcal/mol, el cual es el dímero más estable, y se encuentra en configuración anti paralela, con una distancia interplanar de 3.42 \AA y con un ángulo entre dipolos de 73.98 $^\circ$. Podemos notar que el mínimo b) tiene un valor de energía prácticamente similar al mínimo más profundo, solo mayor en 0.11kcal/mol (en valor absoluto), aunque este valor es muy pequeño, esto no significa que el mínimo a) sea igual al mínimo b), pues de la tabla vemos que este tiene una configuración paralela. Incluso los mínimos d) y e), que tienen el mismo valor de energía, la misma configuración, el mismo ángulo entre dipolos y una distancia interplanar ligeramente diferente no son los mismos, pues el traslape es diferente para cada uno de estos mínimos. Las superficies de traslape no parecen estar correlacionadas con el valor de la energía, se puede ver que en el mínimo global existe un traslape casi total que se ve en el traslape entre los anillos 61- 62 (97.02 %) y 51- 52 (67.65 %), sin em-

bargo en el mínimo b) como se observa en la Figura 4.10 el traslape es aproximadamente la mitad. Por otro lado los mínimos g) y h) presentan significativos traslapes entre anillos opuestos (51-62 y 61-52 con más del 92 % para ambos) en cambio sus energías están en valores de 1.02 a 1.27 kcal/mol por debajo del mínimo global respectivamente.

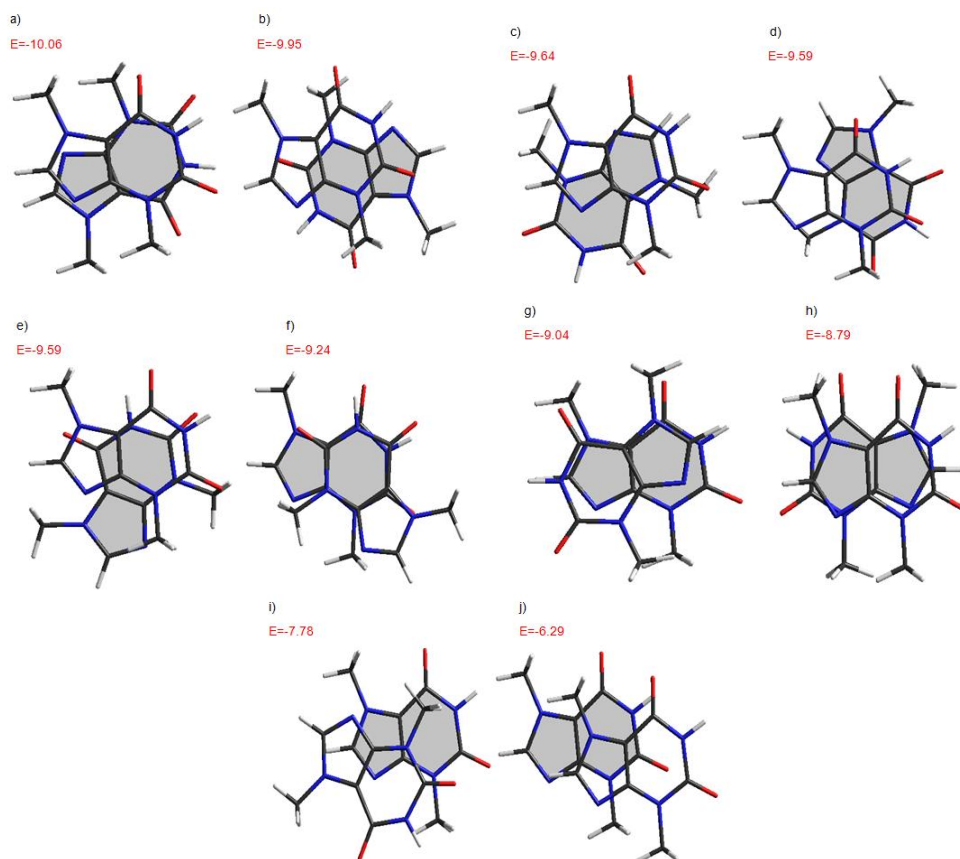


Figura 4.10: Dímeros apilados de teobromina. Los mínimos corresponden con la Tabla 4.2. La molécula inferior se ilumina para distinguir el traslape.

Se puede observar que el mínimo menos energético (mínimo j) en valor absoluto, le corresponde a un ángulo entre dipolos de 2.84° , es decir sus dipolos están casi alineados completamente, en cambio al mínimo más energético (en valor absoluto) le corresponde un ángulo entre dipolos mayor (73.98°), el mínimo más significativo es el mínimo b) con

un ángulo de casi 180° , es decir apuntan en direcciones contrarias. Los dímeros con mayor y menor energía se encuentran separados por aproximadamente 3.77 Kcal/mol, el cual es un valor relativamente pequeño.

En un trabajo experimental (por resonancia de ionización de dos fotones (R2PI) y espectroscopía de doble resonancia IR-UV) y teórico (DFT, con la aproximación B3LYP con un funcional híbrido y con una base 6-311+ G(2d,p)) se realizó el cálculo de los dímeros de tofilina, teobromina y cafeína utilizando las geometrías tautoméricas en el equilibrio por cada xantina metilada [15], en dicho trabajo se encontro que el dímero más probable para la teobromina está en una configuración apilada paralela, mientras que en nuestro trabajo encontramos que el mínimo más probable para la teobromina se encuentra en su configuración plana con dos enlaces de hidrogeno.

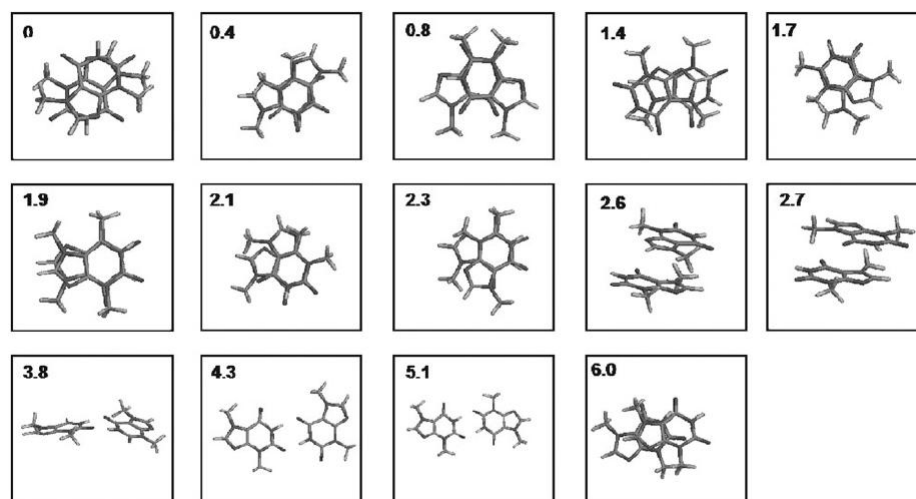


Figura 4.11: Energía relativa en Kcal/mol para el dímero de teobromina calculada por el método DTF al nivel B3LYP/6-311+G(2d,p) de la referencia [15].

Podemos observar de los resultados presentados por este trabajo experimental en la Figura 4.9 que este mínimo global coincide con el mínimo encontrado por nosotros (Figura 4.8 mínimo b), pero que en nuestro caso no es el mínimo global. Es posible que para el observador no sea tan claro verlo, esto es porque nuestro caso se muestra además el

traslape. Por otro lado el mínimo menos probable (Mínimo menos estable) encontrado mediante DFT coincide con el mínimo apilado menos estable j) de la tabla 4.2 (Figura 4.10 j), pero que no representa nuestro mínimo menos probable. La diferencia energética entre los mínimos más y menos estables reportados por este método experimental para la teobromina es de 6.0 kcal/mol, mientras que la diferencia energética entre los dímeros más estable y menos estable reportado por nosotros es de apenas 3.94 kcal/mol. En este trabajo se reporto además la existencia de tres dímeros planos de teofilina mediante cálculos DFT, las cuales se encuentran separadas únicamente por 5.64 kcal/mol.

4.4. Posibles Configuraciones de los dímeros de la molécula de Teofilina

4.4.1. Dímeros planos de teofilina

	E	θ_p	d			
			$O_6 - H_7$	$O_6 - N_7$	$H_7 - O_6$	$N_7 - O_6$
a	-13.44	179.94	1.89	2.90	1.89	2.90
b	-7.98	44.81	1.90	2.89		
c	-7.80	52.70	1.90	2.89		

Tabla 4.3: Valores de la energía y parámetros geométricos de los posibles mínimos de interacción de los dímeros de teofilina en su configuración plana E: Energía del mínimo en kcal/mol; θ_p : Angulo entre los dipolos de las dos moléculas de teofilina ($^\circ$); d: distancias interatómicas entre los átomos que forman el enlaces Å .

Los resultados obtenidos son tres configuraciones planas para los dímeros de teofilina, al igual que los resultados encontrados usando DFT, con la aproximación B3LYP con un funcional híbrido y con una base 6-311+ G(2d,p) [15].

Podemos ver de la tabla 4.3 que el dímero más estable presenta una energía de -13.44 kcal/mol, con un ángulo entre dipolos de 179.94 $^\circ$;

Mientras que el dímero con mayor energía es de -7.80Kcal/mol con un ángulo entre dipolos de 52.70° . La diferencia de energía entre el dímero más estable y el menos estable es de 5.64Kcal/mol .

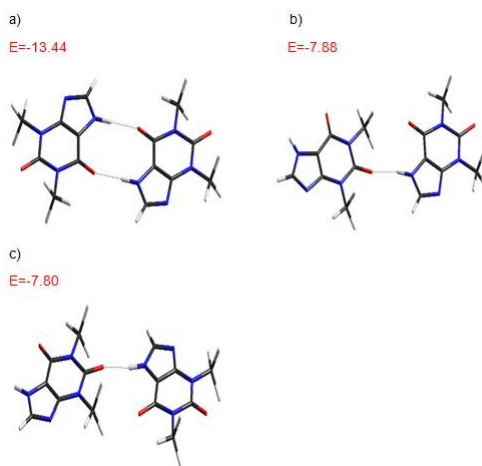


Figura 4.12: Dímeros planos de teofilina. Los mínimos corresponden con los de la tabla 4.3

El dímero con menor energía se encuentra en su configuración plana con un valor de -13.44 kcal/mol y el dímero con mayor energía se encuentra en su configuración apilada con un valor de -6.33 kcal/mol . Estos dímeros se encuentran separados por una diferencia de 7.11 kcal/mol , valor relativamente pequeño. La magnitud del momento dipolar que encontramos para la teofilina es de 3.21D , el cual como mencionamos anteriormente no cambia y se mantiene constante.

Experimentalmente, la teofilina existe como un cristal monohidrato y cinco polimorfos anhidro (sin agua) identificados de la Forma I a V (Forma I, II y III, reportadas en [18]). Un polimorfo es una fase sólida distinta con una disposición estructural diferente. Las propiedades físicas de los polimorfos y formas de hidrato pueden diferir. Las Formas anhidras I a IV se han descrito en un artículo de Seton et al., [19] y la Forma V fue identificada por cristalización a partir del CO_2 supercrítico y también ha sido preparado por cristalización a partir de metanol. Hasta la fecha, estructuras cristalinas completas se han reportado sólo para las Formas I, II y IV.

En un trabajo [17] se reporta la estructura de dispersión de neutrones de un solo cristal de teofilina monohidratado y cálculos de energía de red del hidrato, así como las formas anhidras I y II.

La Forma I se cristaliza en el grupo espacial ortorrómbico Pna21 con una molécula en la unidad asimétrica ($Z' = 1$). La propia molécula THEO es plana, con los sustituyentes metilo en plano con el anillo de purina. Un enlace de hidrógeno corto se puede detectar que implica el grupo NH del anillo de cinco miembros de una molécula (N4-H4) como donante y un grupo carbonilo del anillo de seis miembros de la siguiente molécula como aceptor (C2 = O2), debido a esta interacción, que conecta los grupos funcionales en los extremos opuestos de la molécula, se forman cadenas con enlaces de hidrógeno como una cadena de perlas en el plano. Las cadenas con enlaces de hidrógeno forman apilamientos tipo $\pi \cdots \pi$ en otra cadena superior con una distancia de $3,37\text{\AA}$ (una distancia típica para este tipo de compuesto) que resulta en capas dentro de la estructura que tiene la misma orientación, en la Figura 4.13(izquierda) mostramos la cadena del poliformo de tipo I, este corresponde con el mínimo b) y c) encontrados en nuestros cálculos.

La forma II anhidra de la teofilina ha sido considerada como la forma más estable a temperatura ambiente. La forma III es considerada como una forma altamente metaestable que se convierte fácilmente a la Forma II. La estructura se muestra en la Figura 4.13(derecha).

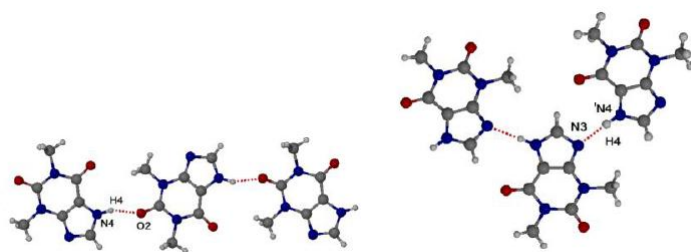


Figura 4.13: Estructura experimental de la Teofilina de la Forma anhidra I y II reportada en la referencia [17].

Estructuras cristalinas de un nuevo polimorfo de teofilina se reportaron recientemente [20], en esta los planos son más paralelos que en la Forma II normal, en la Figura 4.14 mostramos esta estructura.

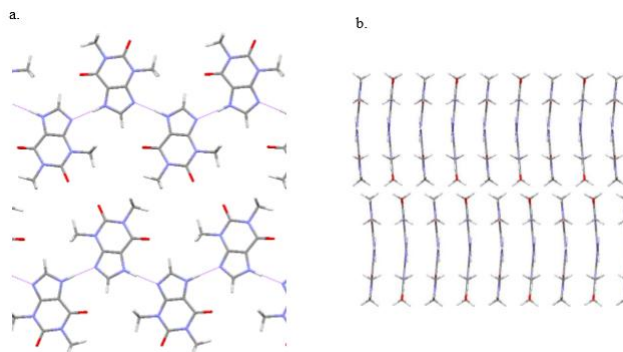


Figura 4.14: Dos vistas de la estructura cristalina del nuevo poliformo del tipo II reportado en [20].

En un trabajo de Sun y col. En 2012 [21] se describe la estructura monohidratada de la teofilina, la cual consiste en dímeros teofilina conectados a través de un centro de inversión. Esto da como resultado la formación de dos enlaces de hidrógeno a partir de N4-H4 a O1 con una distancia $H \cdots O$ de 1.732 \AA a 120 K y 1.762 \AA a 20 K. En ambos casos estas interacciones son muy direccionales con ángulos entre $NH \cdots O$ de $167,9^\circ$ y $163,5^\circ$, respectivamente. Esta dimerización es única en las estructuras cristalinas de teofilina y se puede suponer que desempeñan un papel importante en la formación del hidrato, ya que expone al átomo de nitrógeno N3 fuertemente básico. Los dímeros se encuentran en capas a lo largo del eje cristalográfico, que muestran una distancia interplanar de $3,26 \text{ \AA}$ y por lo tanto se puede suponer que interactúan a través de apilamiento $\pi \cdots \pi$. Esta estructura se muestra en la Figura 4.15.

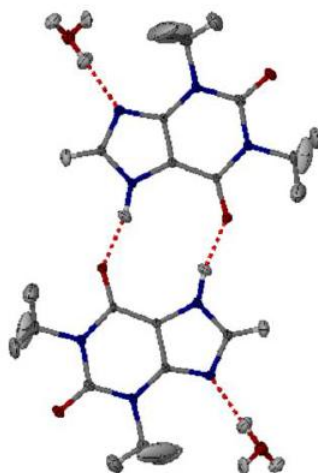


Figura 4.15: Dímero de la Teofilina monohidratada obtenida de la referencia [21].

Podemos observar que estos enlaces se presentan en la formación de dímeros de teofilina en su configuración plana presentados en la figura 4.12 (a, b y c).

4.4.2. Dímeros apilados de teofilina

En la Tabla 4.4 se presentan doce configuraciones apiladas de los dímeros de teofilina, con valores de energía en sus mínimos más profundos. La descripción de la Tabla es similar a la que se hizo para teobromina. En la Figura 4.14 se muestran los mínimos correspondientes con la tabla 4.4. Podemos observar que la energía más pequeña para los dímeros de teofilina apilados es -11.55 kcal/mol, con un ángulo entre dipolos de 179.92° , el dímero se encuentra en su configuración paralela, mientras que el la energía más grande es -6.33 kcal/mol, con un ángulo entre dipolos de 0.034° , el dímero se encuentra también en configuración paralela. La diferencia de energía entre los mínimos mayor y menor en valor absoluto es de 5.22 kcal/mol. Los mínimos más favorables son los menos energéticos, los cuales forman dos enlaces de hidrogeno entre las dos moléculas de teofilina (del a - d).

Al igual que en teobromina las distancias interplanares son consistentes con las distancias entre cristales. Los mínimos más energéticos en valor absoluto (a, b y c) tienen dipolos en direcciones opuestas ($\sim 180^\circ$). En cambio los menos energéticos en valor absoluto (l) y menos favorables a pesar de tener sus dipolos orientados paralelamente ($\sim 0^\circ$) presentan traslapes cercanos a cero.

	E	C	D	θ_p	T			
					51-52	51-62	61-52	61-62
a	-11.55	A	3.57	141.529		3.61	3.62	85.65
b	-10.44	P	3.40	179.92		44.00	43.99	37.58
c	-9.82	A	3.49	173.12		9.17	9.15	98.24
d	-9.79	A	3.40	62.24	29.41		44.09	46.64
e	-9.76	A	3.41	64.37		37.30	37.38	63.99
f	-9.71	P	3.40	67.15		40.65		52.07
g	-9.09	P	3.37	96.55	21.16	13.58	72.39	23.69
h	-9.09	P	3.37	96.44	21.20	72.24	13.66	23.75
i	-8.95	A	3.38	100.19	79.90	1.68	24.63	31.90
j	-8.28	A	3.48	148.42		5.49		3.60
k	-7.61	A	3.35	17.42	3.60	19.86		
l	-6.33	P	3.47	0.03	0.88		39.55	10.59

Tabla 4.4: Valores de la energía y parámetros geométricos de las posibles configuraciones de los dímeros apilados de teofilina. E: Energía del mínimo en kcal/mol; C : Arreglo del mínimo donde A es Antiparalela y P es Paralela; D : Distancia interplanar (\AA); θ_p : Angulo entre dipolos de ambas moléculas de teofilina ($^\circ$); T: Traslape (%) entre los anillos correspondientes de las moléculas de teofilina.

Obtuvimos doce dímeros de teofilina en su configuración apilada. El mínimo más profundo tiene configuración paralela al igual que el mínimo más profundo de teobromina, sin embargo la diferencia entre este y el mínimo que le sigue en energía es de 0.62 kcal/mol, el cual es antiparalelo; Mientras que para teobromina esta diferencia es de 0.11 kcal/mol. En todos los mínimos las distancias interplanares se encuentran dentro de valor reportado en cristales de teofilina no-hidratada [17].

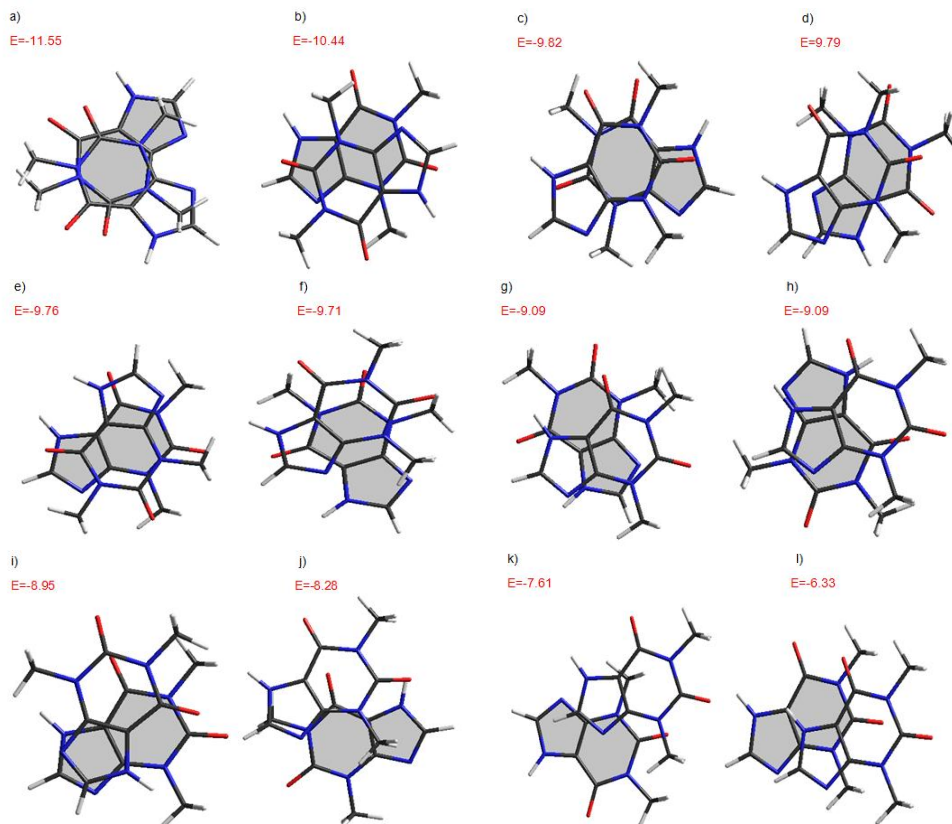


Figura 4.16: Dímeros apilados de teofilina. Los mínimos corresponden con los de la tabla 4.4. La molécula inferior se ilumina para distinguir el traslape.

La diferencia de energía en valor absoluto entre el dímerno mayor y menor es 5.22 kcal/mol.

Conclusión

1. Se ha realizado un análisis de todas las configuraciones posibles para los dímeros de teofilina y teobromina. Los resultados muestran que para estas xantinas los mínimos globales corresponden a los dímeros en configuración plana que se forman con dos enlaces de hidrógeno.
2. La energía de los mínimos apilados para teobromina resultó ser muy cercana al mínimo global plano con una diferencia de 0.34 kcal/mol, mientras que para la teofilina esta diferencia es significativa, de 1.89 kcal/mol.
3. En el caso los mínimos apilados de teofilina y teobromina, los mínimos mas favorables tienen la orientación mutua de los momentos dipolares en los ángulos mayores a 70° , siendo mayoría entre 150° y 180° .
4. La magnitud del momento dipolar encontrado para teobromina es 3.40D y para teofilina 3.21D.

Bibliografía

1. Harper. Bioquímica ilustrada. 28^a edición. Robert K. Murray, MD, PhD. A Lange medical book.
2. Efrén Rodríguez Ángel, Tesis de Doctorado en Física Aplicada “Estudio de la interacción de cafeína con fragmentos receptores de adenosina, utilizando métodos de mecánica molecular” 11 de junio de 2014.
3. V.I. Poltev, E. Rodríguez, T.I. Grokhlina, A. Deriabina E. Gonzalez. Computational Study of the Molecular Mechanisms of Caffeine Action: Caffeine Complex Whit Adenosine Receptors. International Journal of Quantum Chemistry, Vol 110, N.3, 681-688, 2010, Wiley Periodicals Inc.
4. The worl of caffeine: The science and culture of the worlds most popular drug.
5. M. Kabelac and P. Hobza, Chem.–Eur. J., 2001, 7, 2067–2074.
6. Linus Pauling, The Nature of the Chemical Bond and the Structure of Molecules and Crystals: An Introduction to Modern Structural Chemistry 3rd Edition.
7. G. C. Pimentel y A.L. McClellan, The Hydrogen Bond., W. N. Freeman & Comp, San Francisco-E.U.A. 1960.
8. J. Kroon, J. A. Kanters, J. G. van Duijnevdedet-van De Rejdt, J. B. van Duijnevdedet y J. A. Vliegenthart, J. Mol. Struct. 24 (1975) 109.
9. J. A. Odutola and T. R. Dyke, Partially deuterated water dimers: Microwave spectra and structure, J. Chem. Phys. 72 (1980) 5062-5070.

10. Watson JD, Crick FH (April 1953). "Molecular structure of nucleic acids; a structure for deoxyribose nucleic acid" (PDF). *Nature* 171 (4356): 737–738.
11. Guckian KM1, Schweitzer BA, Ren RX, Sheils CJ, Paris PL, Tahmassebi DC, Kool ET, Experimental Measurement of Aromatic Stacking Affinities in the Context of Duplex DNA. *J Am Chem Soc.* 1996 Aug 28;118(34):8182-8183.
12. Jiri Sponer, Kevin E. Riley and Pavel Hobza, Nature and magnitude of aromatic stacking of nucleic acid bases *Phys.Chem. Chem. Phys.*, 2008, 10, 2595.
13. Poltev V.I, Deriabina A.S, Gonzalez E, Grokhlina TI, Interaction Between Nucleic Acid Bases. New Potential Parameter and New Energy Minimum, *Biophysics*, v.47, 972 2002.
14. A.S. Deriabina, T.I. Grokhlina, N.A. Polteva, E. González, V.I. Poltev, Study of Mechanisms of Some Caffeine Biological Effects via Computer Simulation of Its Interactions with DNA Fragments. *J.Mol.Struct. (THEOCHEM)* 769, N 1-3, 97-101, 2006.
15. Michael P. Callahan, Zsolt Gengeliczki, Nathan Svadlenak, Haydee Valdes, Pavel Hobzac and Mattanjah S. de Vries. Non-standard base pairing and stacked structures in methyl xanthine clusters, *Physical Chem Chemical Phy.* 10 (2008) 2819–2826.
16. Aurora J. Cruz-Cabeza, A Shyam Karki, B Laszlo Fabian, A Tomislav Friscic, B. Graeme M. Dayb and William Jones. Predicting stoichiometry and structure of solvates. *Chem. Commun.*, 2010, 46, 2224–2226.
17. Fucke, K. and McIntyre, G. J. and Wilkinson, C. and Henry, M. and Howard, J. A. K. and Steed, J. W. (2012) 'New insights into an old molecule: interaction energies of theophylline crystal forms.', *Crystal Growth Design.*, 12 (3). pp. 1395-1401.
18. Matsuo, K.; Matsuoka, M. Solid-state polymorphic transition of theophylline anhydrate and humidity effect. *Cryst. Growth Des.* 2007, 7 (2), 411-415.
19. L. Seton, D. Khamar, I. J. Bradshaw, G. A. Hutcheon, *Cryst. Growth Des.* 2010, 10, 3879 – 3886.

20. Mark D. Eddleston, Katarzyna E. Hejczyk, Erica G. Bithell , Graeme M. Day, and William Jones. *Chem. Eur. J.* 2013, 19, 7883 – 7888.
21. Sun, C.; Zhou, D.; Grant, D. J. W.; Young Junior, V. G. *Acta Crystallogr., Sect. E: Struct.Rep. Online* 2002, 58, o368.