

PRÁCTICO COMPUTACIONAL N° 5

Interacciones no covalentes inter e intramoleculares: enlace de hidrógeno Construcción de curvas de energía para el isomerismo rotacional

Tareas a llevarse a cabo:

Parte A: Enlace de hidrógeno intermolecular

- Análisis de las distintas posibilidades de interacción entre la molécula de *trans*-N-metilacetamida y una o más moléculas de H₂O y sus características con el método semiempírico PM3.
- Análisis del efecto cooperativo del enlace de hidrógeno en el mismo sistema.

Parte B: Enlace de hidrógeno intramolecular – análisis conformacional.

- Análisis de la formación de enlace de hidrógeno intramolecular en el malonaldehído con el método PM3.
- Estudio de las distintas conformaciones del malonaldehído y construcción de la curva de energía potencial correspondiente a la variación de la energía en función de un ángulo de rotación interno.

Parte C: Enlace de hidrógeno en fase gaseosa y en solución: nonapéptido bradiquinina

- Análisis de los enlaces de hidrógeno intramoleculares presentes en un sistema real: bradiquinina en fase gaseosa con el método AMBER.
- Análisis de la formación de enlaces de hidrógeno intermoleculares en un sistema real: bradiquinina en solución acuosa y efecto del solvente sobre la estructura representados por una caja de solvente en condiciones periódicas y el método AMBER.
- Comparación de la fuerza relativa de las interacciones intra e intermoleculares.

La formación de *enlaces de hidrógeno* X—H···Y (donde X se identifica como el átomo donante de H e Y como el átomo aceptor de protones) juega un rol fundamental en la determinación de la estructura tridimensional de las moléculas de interés biológico y proporciona fuerzas atractivas específicas esenciales en el reconocimiento molecular.

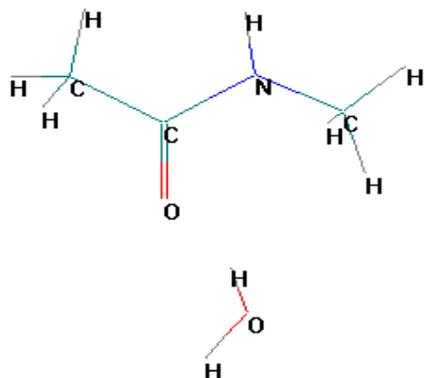
El *enlace de hidrógeno* se forma por interacción entre un enlace X-H polarizado y orbitales polarizados no enlazantes del átomo aceptor Y. Cuando este tipo de interacción se forma, cada una de las partes constituyentes ve alterada su estructura electrónica y distancias de enlace de equilibrio, pero mantiene su integridad química. Generalmente estos tres átomos tienden a formar ángulos cercanos a los 180° (enlace de hidrógeno lineal), si bien como se verá en esta práctica existen interacciones de enlace de hidrógeno que presentan apartamiento de ese valor de referencia. Muchas de las propiedades de un enlace de hidrógeno pueden ser racionalizadas tratándolo como una interacción dipolo-dipolo. La energía de formación de este tipo de interacción débil (del orden de 2-20 kcal/mol) es considerablemente menor que la involucrada en un enlace covalente, lo cual determina que sea relativamente fácil romper este tipo de enlace, por ejemplo mediante calentamiento.

En esta práctica se estudiarán las características energéticas y estructurales asociadas a la formación de dos tipos de interacciones de enlace de hidrógeno:

- a) *intermoleculares*, en las que los átomos donante y aceptor de hidrógeno (X e Y respectivamente) se encuentran ubicados en distintas moléculas (este tipo de enlace se presenta en la formación de complejos de reconocimiento, o en la solvatación de una macromolécula, etc.);

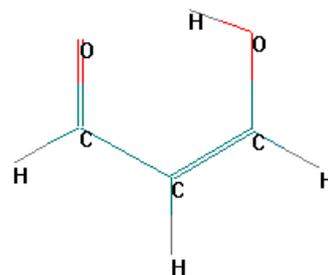
- b) *intramoleculares*, en las que el donante X y el aceptor de hidrógeno Y se hallan en distintos sectores de una misma molécula (este tipo de enlace es el responsable de la estabilidad y estructura de muchas moléculas y macromoléculas)

Como ejemplo de interacciones intermoleculares, se estudiará la formación de enlaces de H entre la molécula de *trans*-N-metilacetamida (NMA) y una o más moléculas de agua.



Este es un buen modelo para analizar las interacciones de la molécula de NMA en solución acuosa, siendo representativo del tipo de enlace de hidrógeno que se encuentra en proteínas (zona del enlace peptídico) y ácidos nucleicos. Note que son varias las posibilidades de formación de enlace de hidrógeno entre estas moléculas, existiendo en la misma átomos con pares solitarios (O, N) capaces de actuar tanto como donantes o aceptores de protones. Para estudiar este sistema, se procederá a utilizar la aproximación de la *supermolécula* (el estudio mecano-cuántico de un conjunto de núcleos y electrones que integran más de una única molécula aislada) que ya fuera introducida en las clases teóricas de este curso. Se iniciará con el estudio de un complejo simple formado entre la molécula de NMA y una molécula de agua, ampliando posteriormente el sistema en estudio mediante la introducción gradual de hasta dos moléculas de agua adicionales que permitirán analizar el efecto cooperativo de este tipo de enlace.

Como segundo ejemplo se estudiará una interacción de enlace de hidrógeno intramolecular sencilla, presente en la molécula de malonaldehído. Dicha molécula posee un grupo dador de H (un grupo funcional alcohol $-OH$) y un grupo aceptor de protones (el átomo de oxígeno de un grupo carbonilo $C=O$). En este caso, la libertad de movimiento de los grupos aceptor y dador de H está limitada por las posiciones que los mismos ocupan en la molécula, y esto dará características particulares al tipo de enlace de hidrógeno que se forma.



En esta parte de la práctica también se analizará el efecto de la rotación del grupo dador de H, alejando el átomo de hidrógeno respecto al grupo aceptor. Se construirá una curva de energía potencial del sistema en función del ángulo de rotación de dicho enlace, mediante una serie de cálculos *single-point* (cálculos simples de energía a configuración nuclear fija, que no necesariamente corresponden a puntos estacionarios y que pueden realizarse con cualquier tipo de método de modelado) y se analizará la existencia de puntos estacionarios en la misma y los requerimientos energéticos necesarios para lograr la conversión de los distintos isómeros conformacionales de la molécula.

Como ejemplo final, se analizará el comportamiento de una molécula presente en la naturaleza, el nonapéptido bradiquinina (péptido introducido en la Práctica N° 2 y que tiene una acción vasodilatadora en el organismo y del cual se conoce la estructura cristalográfica) frente a la formación de enlaces de hidrógeno intra e intermoleculares al estudiar la estructura de dicha molécula en fase gaseosa y en solución acuosa (medio representado mediante el empleo de una caja de agua en condiciones periódicas de contorno).

Parte A: Enlace de hidrógeno intermolecular

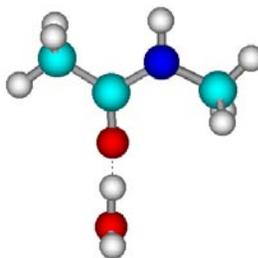
▪ Análisis de las interacciones intermoleculares entre las moléculas trans-NMA y H₂O

El modelado de las interacciones no covalentes entre dos o más moléculas requiere que la estructura a emplear como punto de partida para el proceso de optimización de geometría sea una *supermolécula* es decir un complejo integrado por dos o más fragmentos moleculares (en este caso moléculas de trans-NMA y agua) que interactúan según sus características particulares. Cuando la interacción se da a través de un enlace de hidrógeno el complejo se identifica como *complejo de enlace de hidrógeno*, pudiendo existir otros tipos de interacciones, tales como las ion-dipolo, dipolo-dipolo, etc. En este estudio hemos elegido emplear el método semiempírico PM3 para realizar estos cálculos, el cual representa un buen compromiso entre tiempo y precisión para el estudio de las propiedades de este tipo de sistemas, siendo la descripción del enlace de hidrógeno uno de los puntos débiles del método AM1.

Analice la estructura de la molécula de trans-NMA mostrada en la página anterior. Discuta con el instructor del curso cuántos y cuáles son los sitios en los que esta molécula presentaría la posibilidad de actuar como aceptor o dador de H y que tipo de interacciones de enlace de hidrógeno se pueden formar con el agua. A continuación proceda a modelar los distintos complejos posibles siguiendo el procedimiento indicado. Note que debido al hecho que la construcción de las *supermoléculas* iniciales es una tarea más laboriosa que la construcción de una molécula simple, se le proporcionarán los archivos en los que los puntos de partida adecuados para las optimizaciones ya han sido construidos por el personal del LQTC. Los mismos se hallan en el directorio **C:/Mis documentos/FisicoquímicaII/curso/**. La descripción del proceso correspondiente a la construcción de estas estructuras iniciales está contenida en el Apéndice del protocolo de esta práctica.

1. Abra el archivo *nma-agua-1.hin*. Como resultado debería obtener en pantalla una estructura similar a la de la siguiente figura :

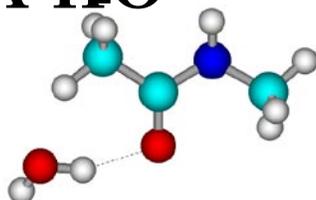
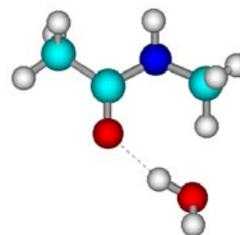
NMA-H₂O 1



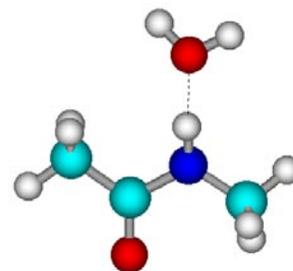
2. Inicie un archivo log para este sistema con el nombre *nma-pm3-1.log*.
3. Optimice la geometría del complejo utilizando el método PM3 (utilice un límite de convergencia SCF = 0.01 y un RMS de gradiente = 0.1).
4. Archive la estructura obtenida como *nma-agua-1-pm3.hin*.

Note que el proceso de optimización de geometría finaliza sin converger al llegar a la cantidad máxima de ciclos establecidos para el cálculo (225) por lo que la estructura obtenida no es válida. Eso se debe a que el punto de partida utilizado para la búsqueda del mínimo se halla bastante lejano del mismo, no siendo una buena elección. Esta experiencia permite ejemplificar el mayor grado de dificultad (respecto a la búsqueda de mínimos de una molécula simple) presente en la optimización de geometría de una *supermolécula*.

- Repita ahora los pasos 1-3 para optimizar un complejo agua-NMA 1:1 a partir de la estructura inicial presente en el archivo *nma-agua-2.hin*, archivando el resultado de la optimización (esta vez exitosa) bajo el nombre *nma-agua-2-pm3.hin*.
- Puesto que el enlace de H posee un 10% de carácter covalente (existen electrones compartidos), una vez realizada la optimización de geometría proceda a visualizar los orbitales moleculares y búsque aquellos que explican el origen de tal interacción. [Orbitales: 7, 8, 13, 14; según la clasificación 'Number']. Discuta y repase con el instructos los conceptos vistos la Práctica N° 3 aplicados ahora a éste sistema.
- El complejo optimizado debería lucir como el mostrado en el lado izquierdo de la siguiente figura. Visualice los enlaces de hidrógeno formados como líneas punteadas en la pantalla con la opción Recompute H Bonds del menú Display. Note que la opción Show Hydrogen Bonds del menú Display debe estar activada para poder ver estos enlaces.

NMA-H₂O**NMA-H₂O 3**

- Mida el valor de algunos ángulos y distancias de enlaces internos a cada fragmento, regístrelos en la **Tabla I** que integra este protocolo, comparándolos con los datos correspondientes a las moléculas de agua y NMA aisladas (información brindada en esta Tabla que necesitará como referencia para determinar los cambios experimentados por cada fragmento como consecuencia de la formación del *enlace de hidrógeno intermolecular*).
- Registre en la **Tabla I** el valor de la energía total del complejo (obténgalo del archivo log generado) y de los principales parámetros estructurales intermoleculares de los enlaces de hidrógeno formados: distancias $O_{nma} \cdots H_{ag}$, $O_{nma} \cdots O_{ag}$ y ángulo $O_{nma} \cdots H-O_{ag}$; distancia $H_{met} \cdots O_{ag}$, y ángulo $H_{met} \cdots O_a-H_{ahb}$.
- Repita los pasos 1-3 y 6-8 para el complejo agua-NMA 1:1 presente en el archivo de entrada *nma-agua-3.hin*. El complejo optimizado debería lucir como el mostrado en el lado derecho de la figura anterior.
- Repita los pasos 1-3, 6 y 7 para el complejo agua-NMA 1:1 presente en el archivo de entrada *nma-agua-4.hin*. El complejo optimizado debería lucir como el mostrado en la siguiente figura
- En este caso registre en la **Tabla I** el valor de la energía total del complejo obtenido, las distancias $N-H_{nma}$, $H_{nma} \cdots O_{ag}$, $N_{nma} \cdots O_{ag}$ y los ángulos $N_{nma}-H \cdots O_{ag}$ y $N_{nma} \cdots O_{ag}-H_{ag}$.

NMA-H₂O 4

De las características de formación de los distintos *enlaces de hidrógeno intermoleculares* posibles entre la NMA y el agua, son dos los aspectos más importantes a comparar al momento de analizar la fuerza relativa de estas interacciones:

- la distancia del enlace de hidrógeno X-H...Y: cuanto más corta es, más fuerte se considera este tipo de interacción (ídem con la distancia entre los átomos X e Y). La obtención de información estructural ya ha sido cubierta en profundidad en las prácticas anteriores, por lo que Ud. ya debería poseer los conocimientos y habilidades requeridos para realizar esta tarea con los 4 complejos caracterizados.
- La energía de formación del complejo de enlace de hidrógeno: cuanto mayor es el valor absoluto de esta magnitud (que debería ser negativa si el complejo se forma) más estable es el complejo y por ende más fuerte la interacción atractiva que posibilita su formación. La determinación de la energía de formación de cada *complejo de enlace de hidrógeno* se lleva a cabo restando la energía de cada uno de los fragmentos que lo integran aislados (las moléculas NMA y H₂O en este caso, optimizadas por separado al mismo nivel de cálculo usado para caracterizar el complejo correspondiente) a la energía total de la *supermolécula*, que incluye los efectos de la interacción. La energía de interacción para el caso de los complejos 1:1 entre ambas moléculas es calculada como:

$$E_{\text{Interacción}} = E_{(\text{NMA} \dots \text{H}_2\text{O})} - (E_{\text{NMA}} + E_{\text{H}_2\text{O}})$$

- Con los datos recogidos y la información adicional proporcionada en la **Tabla I**, calcule las energías de formación de los cuatro complejos. Compare la fuerza relativa de los mismos, haciendo uso de los parámetros estructurales y de estas energías. Discuta con su instructor cuál de todos es el complejo más estable y a que razones se atribuye este comportamiento.
- A continuación modele los complejos NMA-agua en relación 1:2 (archivos *nma-2agua-a.hin*, *nma-2agua-b.hin* y *nma-2agua-c.hin*) y 1:3. (archivo *nma-3agua.hin*). Repita en cada caso los pasos 1-3 para optimizar las geometrías al nivel PM3. Como resultado debería obtener estructuras semejantes a las desplegadas en la siguiente figura:

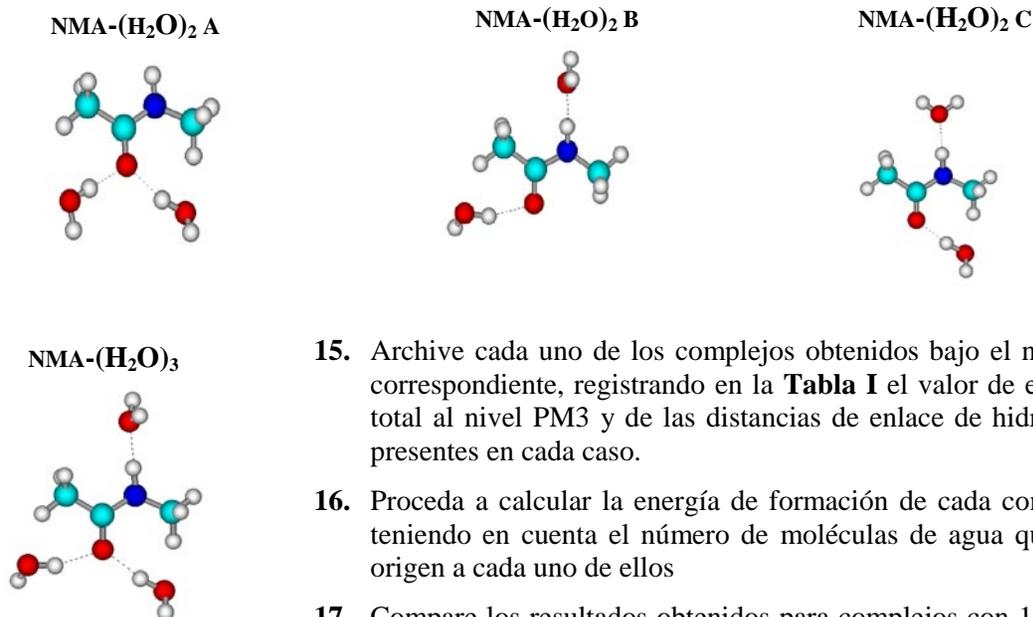
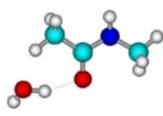
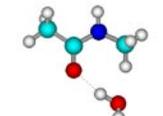
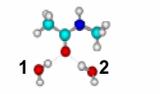
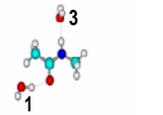
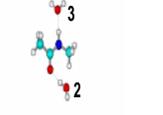
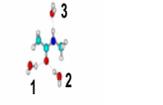


Tabla I: Aspectos energéticos y estructurales de los complejos de enlace de hidrógeno estudiados al nivel PM3

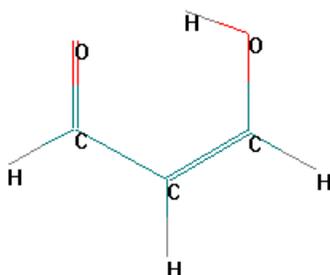
Complejo o fragmento	Energía total (u.a. = Hartree)	Energía de formación del complejo (kcal/mol)*	Distancias de enlace seleccionadas (Å)		Ángulos seleccionados (grados)	
<i>nma-agua-1</i> <i>nma-agua-2</i> 			C=O H-O _{agua} O _{nma} ···H _{agua} O _{nma} ···O _{agua} H _{met} ···O _{agua} C _{met} ···O _{agua}		H-O-H O _{nma} ···H _{agua} -O _{agua} C _{met} -H _{met} ···O _{agua}	
<i>nma-agua-3</i> 			C=O H-O _{ag} O _{nma} ···H _{agua} O _{nma} ···O _{agua} H _{met} ···O _{agua} C _{met} ···O _{agua}	1.229 0.964 1.806 2.747 1.850 2.952	H-O-H O _{nma} ···H _{agua} -O _{agua} C _{met} -H _{met} ···O _{agua}	108.2 164.5 168.2
<i>nma-agua-4</i> 			H-O _{agua} N-H _{nma} H _{nma} ···O _{agua} N _{nma} ···O _{agua}		H-O-H N _{nma} -H _{nma} ···O _{agua}	
<i>nma-2agua-a</i> 			O _{nma} ···H _{agua1} O _{nma} ···O _{agua1} O _{nma} ···H _{agua2} O _{nma} ···O _{agua2}	2.531 3.397 1.808 2.750	O _{nma} ···H _{agua1} -O _{agua1} O _{nma} ···H _{agua2} -O _{agua2}	151.2 165.0
<i>nma-2agua-b</i> 			O _{nma} ···H _{agua1} O _{nma} ···O _{agua1} H _{nma} ···O _{agua3} N _{nma} ···O _{agua3}	1.822 2.748 1.836 2.845	O _{nma} ···H _{agua1} -O _{agua1} N _{nma} -H _{nma} ···O _{agua3}	159.6 177.9
<i>nma-2agua-c</i> 			O _{nma} ···H _{agua2} O _{nma} ···O _{agua2} H _{nma} ···O _{agua3} N _{nma} ···O _{agua3}		O _{nma} ···H _{agua2} -O _{agua2} N _{nma} -H _{nma} ···O _{agua3}	165.2 177.1
<i>nma-3agua</i> 			O _{nma} ···H _{agua1} O _{nma} ···H _{agua2} H _{nma} ···O _{agua3}		O _{nma} ···H _{agua1} -O _{agua1} O _{nma} ···H _{agua2} -O _{agua2} N _{nma} -H _{nma} ···O _{agua3}	160.1 165.4 174.7
<i>nma</i>	-33.803798106	0	C=O N-H	1.221 0.997	O=C-N-H	-154.6
<i>agua</i>	-11.940123831		O-H	0.951	H-O-H	107.7

*Factor de conversión: 1 Hartree = 627.5095 kcal/mol.

Parte B: Enlace de hidrógeno intramolecular – análisis conformacional.

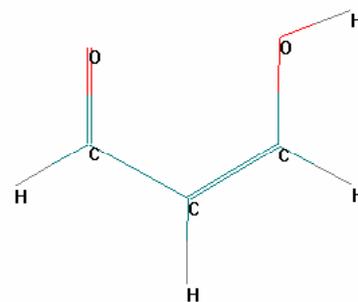
▪ **Análisis del enlace de hidrógeno intramolecular: malonaldehído**

1. Construya la molécula del malonaldehído en la disposición *cis-syn* indicada en el dibujo mostrado en la Figura:

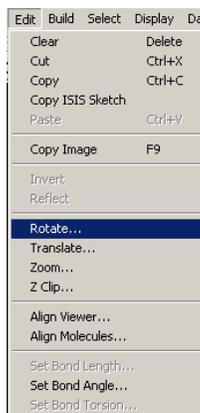


Note que dependiendo de la manera en que ubique los átomos al realizar el dibujo, puede ocurrir que al aplicar la herramienta Model Build obtenga un isómero diferente al buscado. En tal caso necesitará efectuar algunas operaciones para llegar a la estructura deseada. Vea el procedimiento a seguir en estos casos en el Apéndice de esta práctica, verificando con el instructor del curso que se tiene la estructura de partida correcta antes de proceder a la etapa de optimización de geometría.

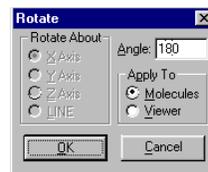
2. Inicie un registro log para esta parte de la práctica, e introduzca un comentario en el mismo referente a la estructura que está optimizando.
3. Proceda a optimizar la geometría de la molécula con el método semiempírico PM3 (utilice un límite de convergencia SCF = 0.01 y un valor límite de RMS de gradiente = 0.1).
4. Archive los resultados obtenidos bajo el nombre *malonald-hb.hin*.
5. Registre en la **Tabla II** el valor de la energía total de la molécula en unidades atómicas (Hartrees) y la información correspondiente a distancias y ángulos de enlace de los átomos involucrados en el enlace de H.
6. Modifique la estructura del malonaldehído rotando el grupo hidroxilo (-OH) 180 grados respecto a su posición original de manera de obtener el isómero mostrado en la figura:



Para lograr esta nueva estructura proceda de la siguiente manera:



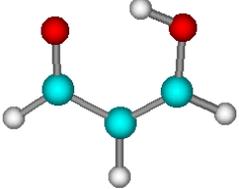
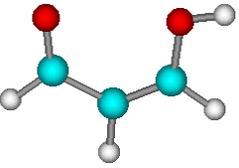
- a) Seleccione los átomos C-O-H del grupo funcional alcohol usando la herramienta de selección (asegúrese previamente que las opciones Atoms y Multiple Selection estén activadas en el menú Select).
- b) Vaya al menú Edit y active la opción Rotate. Como resultado de esta operación, obtendrá un cuadro de diálogo como el mostrado en la imagen de la derecha en la siguiente página.
- c) Entre las opciones presentes en dicho cuadro elija Apply to Molecules y coloque un valor de 180 grados en la ventana del ángulo de rotación. Acepte estos valores.



7. Introduzca un comentario en el archivo log para indicar que inicia el registro de trabajo con esta estructura.
 8. Realice la optimización de geometría en las mismas condiciones que en los casos anteriores (PM3).
 9. Archive el resultado del cálculo bajo el nombre *malonald-nhb.hin*.
 10. Registre en la **Tabla II** el valor de la energía total de esta estructura y de los parámetros estructurales ya determinados para el isómero estudiado previamente.
 11. Calcule la diferencia de energía entre ambos isómeros conformacionales, e introdúzcala en la **Tabla II**. Este valor le servirá de referencia para comparar la energía de formación del complejo de enlace de hidrógeno intramolecular.
 12. Compare entre sí las energías de formación y parámetros estructurales de complejos de enlace de hidrógeno inter e intramoleculares similares (O...H-O) correspondientes a los dos sistemas hasta aquí estudiados. Discuta estos resultados con el instructor del curso.
- **Construcción de la curva de energía potencial para la rotación del grupo –OH del malonaldehído.**
1. Cargue nuevamente la estructura del malonaldehído *malonald-hb.hin*.
 2. Aplique el procedimiento de rotación del grupo OH indicado en el punto 6 de la parte previa de la práctica, empleando un ángulo de 60 grados.
 3. Introduzca un comentario en el registro log abierto, indicando la estructura sobre la que realizará un cálculo *single-point* al nivel PM3.
 4. Proceda a realizar el cálculo. Seleccione el método PM3 en el menú Setup con el mismo límite de convergencia SCF que en los casos anteriores. Active la opción single point en el menú Compute.
 5. Archive los resultados del cálculo bajo el nombre *malonald-hb+60-sp.hin*.
 6. Registre el valor de energía total obtenido en la **Tabla II**.
 7. Repita el procedimiento empleado en los pasos 1-6 cambiando el ángulo de rotación a un valor de -60 grados. Archive los resultados del cálculo bajo el nombre *malonald-hb+300-sp.hin*.
 8. Cargue la estructura del malonaldehído sin puente de hidrógeno *malonald-nhb.hin*. Repita el procedimiento de los puntos 2-6 para la rotación del grupo OH empleando un ángulo de 60 grados. Archive los resultados del cálculo bajo el nombre *malonald-hb+240-sp.hin*
 9. Repita el procedimiento empleado en el paso 8 con un ángulo de rotación de -60 grados. Archive los resultados del cálculo bajo el nombre *malonald-hb+120-sp.hin*.
 10. Cierre el registro del archivo log.
 11. Calcule la energía relativa respecto al conformero HB para cada una de las estructuras de la curva rotacional para las que obtuvo la energía total.
 12. Construya una curva de energía potencial versus ángulo de rotación.
 13. Calcule la barrera directa e inversa para la conversión entre ambos isómeros.

Analice el significado de la información obtenida, discutiendo con el instructor que tipo de puntos estacionarios aparecen en la misma, que clase de especie química representan (estable, inestable, etc.) y que requerimientos energéticos son necesarios para transformar un isómero en el otro.

Tabla II: Datos energéticos y estructurales de los distintos conforméromos del malonaldehído estudiados a nivel PM3 (estructuras optimizadas y cálculos single point)

Estructura	Energía total (u.a. = Hartree)	Energía relativa (kcal/mol)*	Distancias de enlace seleccionadas (Å)		Ángulos seleccionados (grados)	
<p><i>Malonald-hb</i></p> 		0	C=O		$O_{\text{carb}} \cdots H_{\text{hb}} - O_{\text{alc}}$	
			C-C		O=C-C	
			C=C		C-C=C	
			C-O _{alc}		C=C-O _{alc}	
			O _{alc} -H _{hb}		C-O _{alc} -H _{hb}	
			$O_{\text{carb}} \cdots H_{\text{hb}}$			
			$O_{\text{carb}} \cdots O_{\text{alc}}$			
<p><i>Malonald-nhb</i></p> 			C=O	1.211	$O_{\text{carb}} \cdots H_{\text{hb}} - O_{\text{alc}}$	7.6
			C-C	1.469	O=C-C	125.7
			C=C	1.346	C-C=C	127.7
			C-O _{alc}	1.352	C=C-O _{alc}	121.2
			O _{alc} -H _{hb}	0.948	C-O _{alc} -H _{hb}	107.2
			$O_{\text{carb}} \cdots H_{\text{hb}}$	3.785		
			$O_{\text{carb}} \cdots O_{\text{alc}}$	2.848		
<i>Malonald-hb+60-sp</i>						
<i>Malonald-hb+120-sp</i>						
<i>Malonald-hb+180-sp</i>						
<i>Malonald-hb+240-sp</i>						
<i>Malonald-hb+300-sp</i>						

*Tomada respecto a la estructura malonald-hb Factor de conversión: 1 Hartree = 627.5095 kcal/mol.

Parte C: Enlace de hidrógeno en fase gaseosa y en solución: nonapéptido bradiquinina

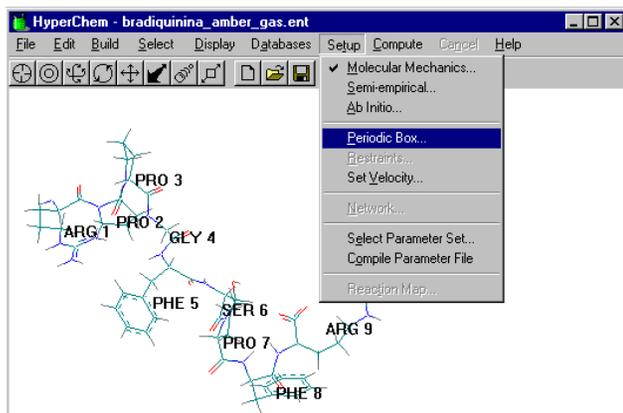
■ **Análisis de interacciones intramoleculares en un péptido en fase gaseosa**

1. Cargue el archivo *bradiquinina.hin*. El mismo corresponde a la estructura cristalográfica del nonapéptido natural bradiquinina.
2. Abra un registro log asociado a este estudio.
3. Realice la optimización de geometría de esta estructura utilizando el campo de fuerza Amber (verifique que la opción Dielectric está seleccionada como Constant) con un valor de RMS gradiente de 1.
4. Archive la estructura optimizada bajo el nombre *bradiquinina_AMBER_gas.hin* y visualice la formación de enlaces de hidrógeno intracatenarios. El resultado obtenido debería ser similar al mostrado en la **Tabla III**. Para visualizar mejor esta estructura identifique cada residuo por su nombre y número de secuencia. En la Tabla III de la página 5-14 se reportan las distancias y ángulos de los enlaces de hidrógeno formados.

■ **Estudio de las interacciones intra moleculares en solución acuosa descrita explícitamente trabajando en una caja PBC (Periodic boundary conditions).**

El programa Hyperchem permite simular el comportamiento de un soluto en solución acuosa (como puede ocurrir en un sistema biológico) mediante el agregado de moléculas explícitas de agua dentro de una caja de condiciones periódicas.

Usar una caja periódica implica imponer condiciones de contorno periódicas generando sistemas virtuales idénticos que se ubican alrededor de la caja central real que observamos en el espacio de trabajo (del orden de 10^{23} sistemas). Esto permite que la molécula de soluto se pueda mover en un entorno de densidad constante simulando adecuadamente las condiciones en solución y evitando la aparición de efectos de borde no deseados en los cálculos (como por ejemplo la evaporación de moléculas de agua). En Hyperchem *la opción Periodic Box está solamente disponible para los cálculos de Mecánica Molecular*, siendo ignorada en el caso de cálculos que utilicen métodos cuánticos. Por dicha razón los cálculos que haremos sobre la bradiquinina serán del tipo clásico utilizando el campo de fuerza Amber.

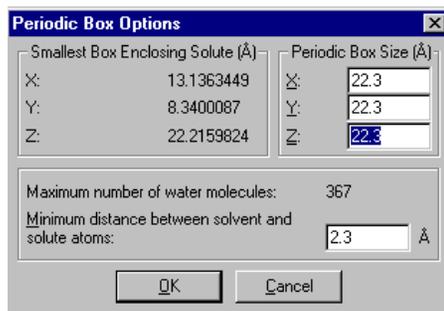


1. Vuelva a cargar el archivo *bradiquinina_AMBER_gas.hin*.

2. Seleccione Periodic Box en el menú Setup.

3. Observe la información que aparece en la caja de diálogo Periodic Box Options.

En el sector izquierdo se informa el tamaño mínimo de la caja que contiene el soluto en Å.



Sobre el lado derecho, el usuario puede especificar las dimensiones de la caja a emplear en el cálculo. Por defecto el programa asigna una caja cúbica de 44.4 Å.

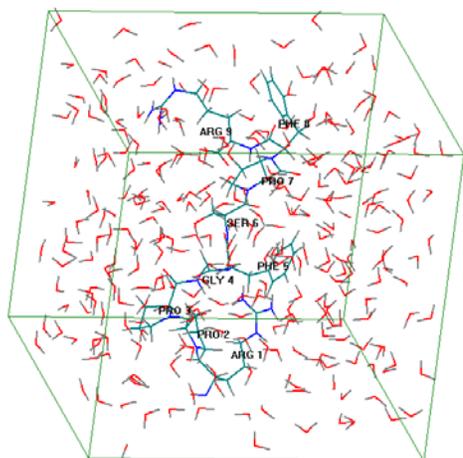
- Ingrese los siguientes valores para la caja periódica a emplear $X = 22.3 \text{ \AA}$, $Y = 22.3 \text{ \AA}$ y $Z = 22.3 \text{ \AA}$.
- Observe que el número de moléculas de agua máximo se reduce a 367.
- Haga L-click en OK para aceptar esta selección.

La forma en que el programa Hyperchem coloca las moléculas explícitas de agua en la caja corresponde a la de un potencial (TIP3P) que representa una solución de moléculas de agua en equilibrio a 300K y una atmósfera. Esto permite que las moléculas sean ubicadas alrededor del soluto a una distancia mínima de 2.3 Å en una forma más rápida y más realista desde un punto de vista físico de lo que lograríamos colocándolas a mano.

El número real de moléculas de agua dentro de la caja será menor que el máximo indicado debido a que algunas moléculas son reemplazadas por el soluto, y otras que se ubican en los bordes de la caja son excluidas (el programa mantiene solamente aquellas cuyo átomo de oxígeno se encuentra dentro de la caja).

- Si observa etiquetas sobre los átomos inactive esta opción para poder visualizar mejor la disposición de las moléculas (en el menú Display, elija la opción Labels y seleccione None en la caja de diálogo correspondiente).
- Vaya a la opción Rendering en el menú Display. Active Perspective en la caja de diálogo Rendering/Sticks

La imagen desplegada en la pantalla de su computador debería ser similar a la de la figura:

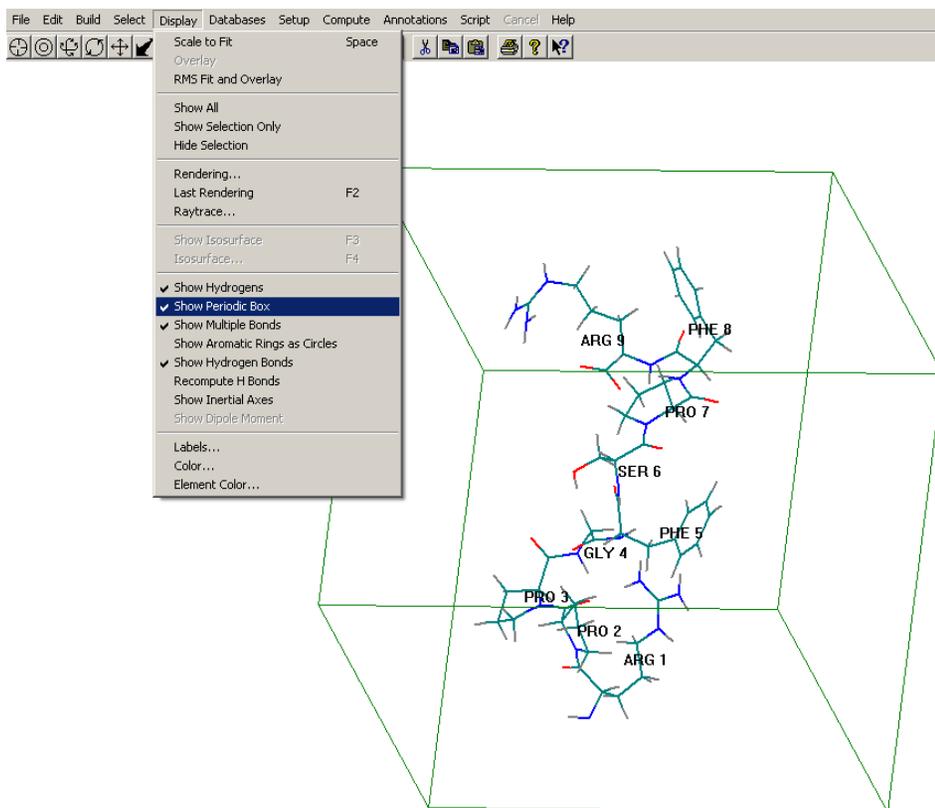


Si desea cambiar el tamaño de la caja periódica empleada, se aconseja eliminar primero las moléculas de agua (en caso contrario la caja mínima al volver a abrir la caja de diálogo Periodic Box Options incluirá estas moléculas). Si desea en cambio eliminar la caja periódica, la forma más sencilla para hacerlo es abrir la caja de diálogo Periodic Box Options y hacer L-click en Cancel.

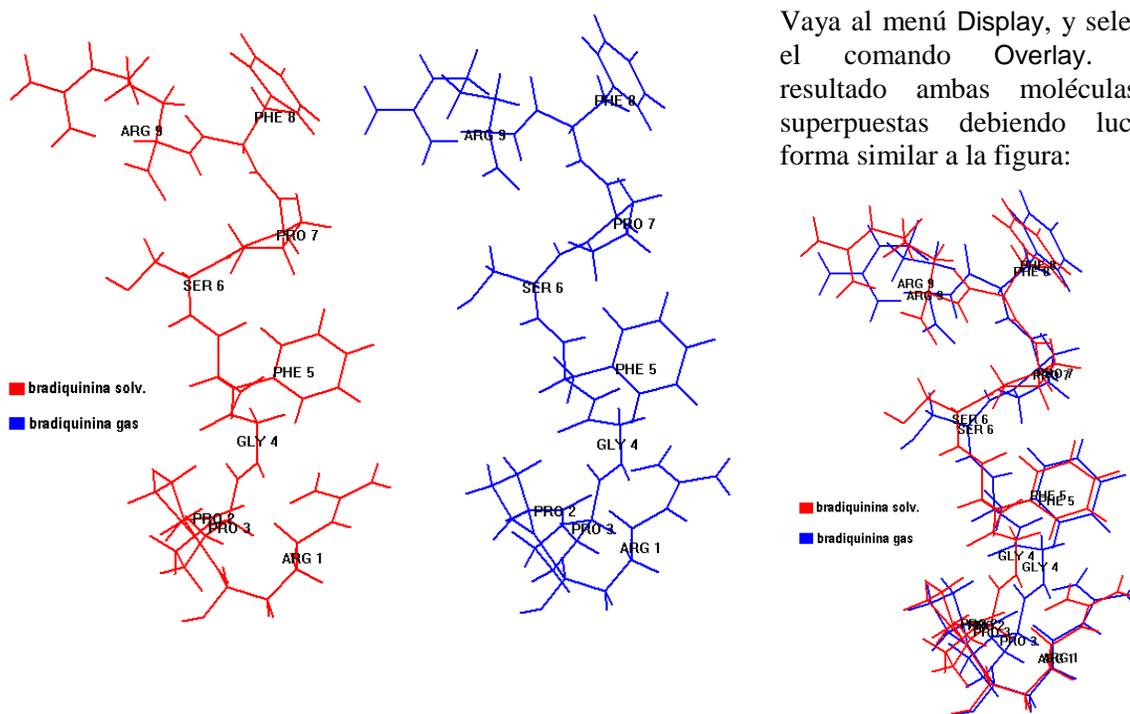
Si bien no está contemplado como una opción automática en el programa Hyperchem, es posible trabajar con otros solventes distintos de agua. Para ello es necesario crear cajas periódicas a medida. Esto implica calcular en primer lugar el número de moléculas de solvente adecuadas a la caja; luego ubicar las moléculas de solvente al azar en la misma, y equilibrarlas (esto puede ser llevado a cabo con un cálculo de Dinámica molecular). De esta manera se obtiene una caja de solvente genérica. Luego deberá eliminar algunas moléculas de solvente para ubicar su soluto dentro de una caja.

- Seleccione Molecular Mechanics en el menú Setup.

7. Seleccione Amber y haga L-click en Options al abrirse la caja de diálogo correspondiente, observe la opción Cutoffs, ésta opción determina los límites para el cálculo de las interacciones no enlazantes, y es cambiada automáticamente al imponer condiciones de caja periódica. La opción Switched utiliza una función suave cuyo dominio se extiende entre los radios interno y externo, para reducir gradualmente las interacciones no enlazantes a cero, en lugar de usar el corte rectangular que la caja impone.
8. Haga L-click en OK para cerrar la caja de diálogo.
9. Realice la optimización de geometría en solución utilizando un valor de RMS gradiente de 1. Asegúrese primero de que no hay ninguna selección activa, ya que la optimización se realiza sólo sobre el sistema seleccionado. Verifique que se utilicen las mismas opciones que en el caso de la optimización en fase gaseosa, a excepción de In vacuo, que debería ser sustituido por Periodic boundary conditions.
10. Archive el resultado de este cálculo bajo el nombre de *bradiquinina_solv.hin*.
11. A los efectos de comparar la estructura solvatada con la correspondiente en fase gaseosa proceda a eliminar las moléculas de agua de la caja periódica. Seleccione la molécula de bradiquinina y en el menú Display vaya a Complement Selection. Vaya al menú Edit y elija la opción Clear. Las moléculas de agua serán eliminadas del sistema.
12. Elimine la opción de desplegado de la caja periódica. Vaya al menú Display, y haga L-click sobre la opción Show Periodic Box:

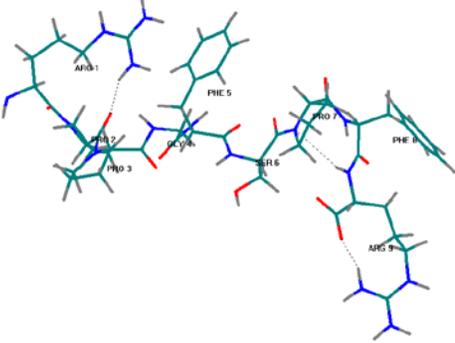
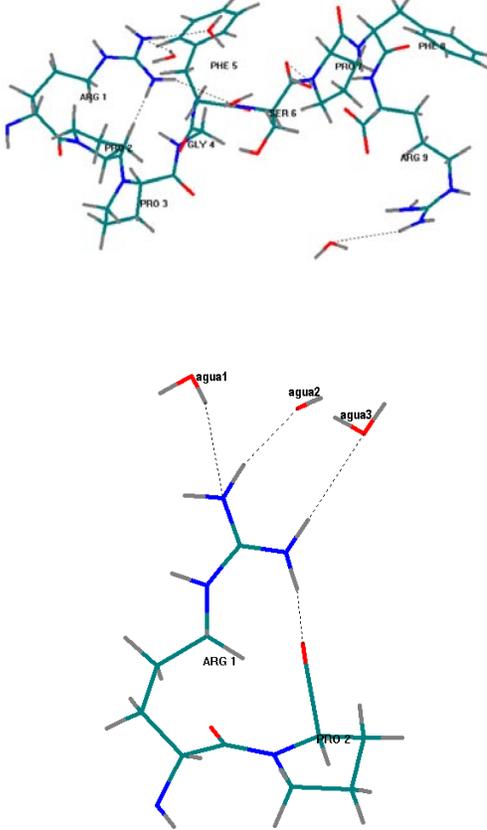


13. Archive la molécula de bradiquinina optimizada en solución como *bradiquinina_solucion.hin*.
14. Identifique la molécula cambiando el color de esta estructura a azul. Para ello vaya al menú Display/Colors y elija el color azul (blue) en la caja de diálogo correspondiente.
15. Despliegue también en pantalla la estructura de *bradiquinina_AMBER_gas.hin* cargándola desde el menú File con el comando Merge. El mismo le permite agregar a la molécula presente en el espacio de trabajo, una segunda estructura disponible en otro archivo. Asigne un color a la estructura en fase gaseosa (por ej. rojo) y active la opción Labels/Symbol para ambas moléculas. (Si es necesario, emplee las herramientas de rotación y traslación para ubicar ambas moléculas en una orientación similar)
16. Superponga ambas moléculas. Para ello, debe seleccionar (activando previamente Atoms y Multiple Selections en el menú Selection) tres átomos en la primera, y luego los mismos tres átomos en la segunda.



17. Archive las moléculas superpuestas como *bradiquinina_sup.hin*. discuta con el instructor del curso las principales modificaciones estructurales que sufre la molécula como resultado de su interacción con el solvente.
18. Para poder analizar más detalladamente la formación de puentes de hidrógeno intra e intermoleculares entre la bradiquinina y las moléculas de agua cargue el archivo *bradiquinina_solv_primeresfera.hin* en el cual se muestra la primer capa de solvatación del péptido obtenida a partir del cálculo anterior. Todas las demás moléculas de agua fueron eliminadas para mejorar el análisis. Proceda a visualizar la formación de enlaces de hidrógeno mediante la opción Recompute Hydrogen Bonds del menú Display (desactivando previamente la opción Show Periodic Box) y complete la **Tabla III**. A partir de los resultados obtenidos compare la fuerza de enlace de hidrógeno para los demás sistemas estudiados. (*N-H...O para el complejo trans-NMA...agua y la bradiquinina*).

Tabla III: Datos estructurales de la bradiquinina en fase gaseosa y solvatada optimizadas con el campo de fuerza AMBER.

Estructura	Distancias de enlace seleccionadas (Å)	Ángulos seleccionados (grados)	
<p><i>bradiquinina_AMBER_gas</i></p> 	$O_{Pro2} \cdots H_{Arg1}$ 1.728	$N-H_{Arg1} \cdots O_{Pro2}$ 152.6	
	$N_{Arg1} \cdots O_{Pro2}$ 2.674		
	$N_{Arg1}-H_{Arg1}$	1.019	-----
	$O_{Arg9} \cdots H_{Arg9}$ 1.662	$C=O_{Arg9} \cdots H_{Arg9}$ 151.8	
	$N_{Arg9} \cdots O_{Arg9}$ 2.647		
	$C_{Arg9}=O_{Arg9}$	1.246	-----
	$H_{Arg9} \cdots N_{Pro7}$ 3.092	$N-H_{Arg9} \cdots N_{Pro7}$ 152.4	
	$N_{Arg9} \cdots N_{Pro7}$ 4.015		
	$N_{Arg9}-H_{Arg9}$	1.011	-----
	<p><i>bradiquinina_solv_primeresfera</i></p> 	$O_{Pro2} \cdots H_{Arg1}$ 1.834	$N-H_{Arg1} \cdots O_{Pro2}$ 156.8
$N_{Arg1} \cdots O_{Pro2}$ 2.807			
$N_{Arg1}-H_{Arg1}$		1.027	-----
$O_{Arg9} \cdots H_{Arg9}$ 2.960		$C=O_{Arg9} \cdots H_{Arg9}$ 148.6	
$N_{Arg9} \cdots O_{Arg9}$ 3.309			
$C_{Arg9}=O_{Arg9}$		1.234	-----
$H_{Arg9} \cdots N_{Pro7}$ 3.495		$N-H_{Arg9} \cdots N_{Pro7}$ 141.2	
$N_{Arg9} \cdots N_{Pro7}$ 4.332			
$N_{Arg9}-H_{Arg9}$		1.014	-----
$O_{Ser6} \cdots H_{agua}$ 3.052		$O-H_{agua} \cdots O_{Ser4}$ 157.2	
$O_{Ser4} \cdots O_{agua}$ 3.963			
$H_{Arg9} \cdots O_{agua}$ 3.114		$N-H_{Arg9} \cdots O_{agua}$ 163.2	
$N_{Arg9} \cdots O_{agua}$ 4.089			
$N_{Arg1} \cdots H_{agua1}$		3.107	-----
$H_{Arg1} \cdots O_{Pro2}$	1.834	-----	
$H_{Arg1} \cdots O_{agua2}$ 2.024 3.182	$H_{Arg1} \cdots O_{agua3}$	-----	

