

10.11 COMPORTAMENT GENERAL DE LES CICLOAMILOSES ESTUDIADAES

10.11.1 PARÀMETRES ESTRUCTURALS

Tenint en ment les estructures concretes que pot adoptar cada cicloamilosa, les quals són molt variables, com hem observat, ja podem passar a analitzar globalment els resultats obtinguts. Primerament comentarem, un a un, els paràmetres estructurals analitzats. Els resultats experimentals d'aquests paràmetres corresponen a la geometria típica de les ciclodextrines; el con truncat, però ja hem vist com en els càlculs de les CA aquesta forma no es manté en les CA majors, i ja en les CA comunes presenta desviacions estructurals importants. Així doncs les diferències dels resultats calculats amb els experimentals provenen bàsicament d'aquest fet.

| Dist O4...O4 (Å) cicloamilosa | Fase gas | | | | En solució aquosa | | | | Experimental (raigs X) | | |
|-------------------------------------|----------|------|------|------|-------------------|------|------|------|---------------------------|-------|-------|
| | avg | dev | màx | min | avg | dev | màx | min | avg | màx | min |
| CA6 | 4.42 | 0.16 | 4.90 | 3.81 | 4.33 | 0.17 | 4.89 | 3.65 | 4.235 | 4.298 | 4.158 |
| CA7 | 4.41 | 0.20 | 4.93 | 3.66 | 4.32 | 0.20 | 4.95 | 3.58 | 4.385 | 4.499 | 4.267 |
| CA8 | 4.64 | 0.12 | 5.07 | 4.07 | 4.44 | 0.18 | 5.03 | 3.70 | 4.502 | 4.592 | 4.433 |
| CA9 | 4.49 | 0.17 | 4.97 | 3.79 | 4.43 | 0.21 | 5.03 | 3.76 | 4.489 | 4.734 | 4.262 |
| CA10 | 4.55 | 0.17 | 5.00 | 3.72 | 4.49 | 0.17 | 5.08 | 3.64 | 4.488 | 4.63 | 4.36 |
| CA11 | 4.68 | 0.12 | 5.07 | 4.00 | 4.62 | 0.16 | 5.14 | 3.96 | | | |
| CA12 | 4.44 | 0.15 | 4.96 | 3.68 | 4.53 | 0.19 | 5.10 | 3.79 | | | |
| CA13 | 4.53 | 0.18 | 4.97 | 3.73 | 4.56 | 0.16 | 5.12 | 3.89 | | | |
| CA14 | 4.42 | 0.17 | 4.93 | 3.77 | 4.55 | 0.18 | 5.13 | 3.81 | 4.54 | 4.61 | 4.45 |
| CA26 | 4.69 | 0.19 | 5.16 | 4.01 | 4.61 | 0.17 | 5.18 | 3.98 | | | |
| CA26crys | 4.48 | 0.20 | 4.99 | 3.80 | 4.38 | 0.17 | 4.95 | 3.72 | | | |
| CA28 | 4.63 | 0.19 | 5.14 | 3.92 | 4.62 | 0.16 | 5.16 | 3.93 | | | |

Taula 31 Valors de la distància entre els oxígens glucosídics de glucoses adjacents en cada CA: calculats en fase gas, en solució aquosa i comparats amb els experimentals de raigs X.

A la Taula 31 podem observar els valors que adopta la distància entre els oxígens glucosídics. Si ens fixem en els resultats experimentals (tercera columna) observem com la distància augmenta de CA6 a CA8 i després és manté a uns 4.5 Å, això és degut a que a mesura que augmenta el nombre de residus de la CA, el cercle esdevé més gran i els oxígens s'han d'allunyar si es vol mantenir l'estructura. Els valors obtinguts dels nostres càlculs, tant en fase gas com en solució (primera i segona columna respectivament), presenten uns valors més homogenis per totes les CA, amb desviacions grans degut a que poden adoptar nombroses conformacions. Sí que es pot observar que en CA8 tenim distàncies més grans que en CA6 i CA7, però en les CA majors ja no es noten canvis degut a que no adopten la forma de con truncat. És important ressaltar que la CA26crys, en fase aquosa sobretot, presenta una distància molt més curta i similar a la de la CA7 experimental, com ja hem vist en les figures la CA26crys manté una mica la forma de l'estructura cristal·lina i aquesta està formada per

hèlixs d'unes sis glucoses per volta, és a dir, que els oxígens glucosídics es veuen obligats a estar més pròxims degut a aquesta estructura, en canvi, en les altres CA l'estructura és més lliure i més oberta, i els oxígens ja es troben més allunyats.

| Dist O2...O3 (Å) cicloamilosa | Fase gas | | | | En solució aquosa | | | | Experimental (raigs X) | | |
|-------------------------------------|----------|------|------|------|-------------------|------|------|------|---------------------------|-------|-------|
| | avg | dev | màx | min | avg | dev | màx | min | avg | màx | min |
| CA6 | 4.35 | 0.43 | 5.49 | 2.98 | 4.32 | 0.31 | 5.31 | 3.03 | 2.981 | 3.150 | 2.902 |
| CA7 | 4.39 | 0.48 | 5.48 | 3.01 | 4.23 | 0.38 | 5.32 | 3.07 | 2.884 | 2.978 | 2.801 |
| CA8 | 4.38 | 0.26 | 5.43 | 3.50 | 4.72 | 0.28 | 5.55 | 3.29 | 2.823 | 2.911 | 2.765 |
| CA9 | 4.82 | 0.40 | 5.72 | 3.35 | 4.77 | 0.49 | 5.72 | 3.07 | 2.906 | 3.234 | 2.741 |
| CA10 | 4.96 | 0.24 | 5.72 | 3.91 | 4.72 | 0.33 | 5.54 | 3.12 | 2.927 | 3.01 | 2.85 |
| CA11 | 4.39 | 0.24 | 5.42 | 3.60 | 4.46 | 0.31 | 5.44 | 3.06 | | | |
| CA12 | 4.21 | 0.18 | 5.13 | 3.35 | 4.43 | 0.51 | 5.52 | 2.83 | | | |
| CA13 | 4.48 | 0.26 | 5.49 | 3.59 | 4.64 | 0.31 | 5.55 | 3.08 | | | |
| CA14 | 4.72 | 0.31 | 5.54 | 3.60 | 4.69 | 0.52 | 5.67 | 2.75 | 2.83 | 2.90 | 2.76 |
| CA26 | 4.62 | 0.38 | 5.59 | 3.44 | 4.59 | 0.41 | 5.56 | 3.11 | | | |
| CA26crys | 4.42 | 0.42 | 5.45 | 3.18 | 4.58 | 0.35 | 5.46 | 3.19 | | | |
| CA28 | 4.64 | 0.34 | 5.60 | 3.28 | 4.27 | 0.45 | 5.51 | 2.89 | | | |

Taula 32 Valors de la distància entre els oxígens secundaris (O2 i O3) de glucoses adjacents en cada CA: calculats en fase gas, en solució aquosa i comparats amb els experimentals de raigs X.

A la Taula 32 podem observar els valors que adopta la distància entre els oxígens secundaris de glucoses adjacents, aquests són els que poden formar enllaç d'hidrogen entre ells. Si ens fixem en els resultats experimentals (tercera columna) observem com els valors són petits, és a dir que existeixen enllaços d'hidrogen, o més aviat una xarxa cooperativa d'enllaços entre les glucoses adjacents. Les distàncies obtingudes en els càlculs són molt més grans, tot i que la distància mínima és del ordre de 3 Å i és indicativa d'enllaç d'hidrogen, aquests no es mantenen si no que es fan i es desfien contínuament. També es pot observar com CA6, CA7 i CA8 (en menor grau) tenen valors promig més petits que la resta de les CA, això ens indica que tenen més

tendència a formar enllaços d'hidrogen entre glucoses veïnes (conserven l'anell d'enllaços d'hidrogen O2...O3) que la resta de les CA, les quals degut als seus replegaments poden formar enllaços amb glucoses més allunyades en la cadena. Trobem altres CA amb distàncies curtes, com és el cas de la CA12 en fase gas, aquesta adopta una estructura plegada en dos molt simètrica, de manera que en cada un dels costats del plec es manté l'anell d'enllaços d'hidrogen O2...O3, i per tant la distància promig resultant és més curta.

Ara bé al cas parlar dels enllaços d'hidrogen intramoleculars presents en cada cicloamilosa estudiada. A la Figura 76 podem observar com el nombre d'enllaços d'hidrogen augmenta a mesura que augmentem el nombre de residus de glucosa de cada CA (primera gràfica), fet bastant lògic degut a que hi ha més grups hidroxils presents. La informació important l'extraïem de la segona gràfica, el nombre d'enllaços d'hidrogen per glucosa, observem com les ciclodextrines comunes (CA6, CA7 i CA8) presenten un nombre creixent d'enllaços d'hidrogen, coherent amb els resultats experimentals que donen distàncies més curtes d'enllaç d'hidrogen (entre O2...O3) en direcció CA6→ CA8. En CA9 ja es trenca la cooperació d'enllaç d'hidrogen O2...O3 degut a que l'estructura es deforma, i així hi ha menys enllaços d'hidrogen per glucosa. En la CA10, i en les CA majors, les estructures ja presenten plegaments i desplegaments més pronunciats que permeten la formació d'enllaços d'hidrogen entre residus de glucosa més allunyats, així, encara que no presentin els enllaços O2...O3 en presenten molts més i en total tenen més enllaços d'hidrogen que les CA comunes. Un cas que es veu diferent és el de la CA11, aquesta presenta molt menys nombre d'enllaços d'hidrogen, però ja hem vist en les figures com la CA11 no es plega gairebé gens i per tant no forma enllaços entre glucoses llunyanes, com sí que fan les altres CA. També s'observa com la CA26 (en les dues simulacions realitzades) és la que presenta major

nombre d'enllaços d'hidrogen per glucosa, recordem que aquesta CA presenta un major grau de replegament que situa les glucoses més compactament i per tant hi ha més facilitat de formar enllaços d'hidrogen.

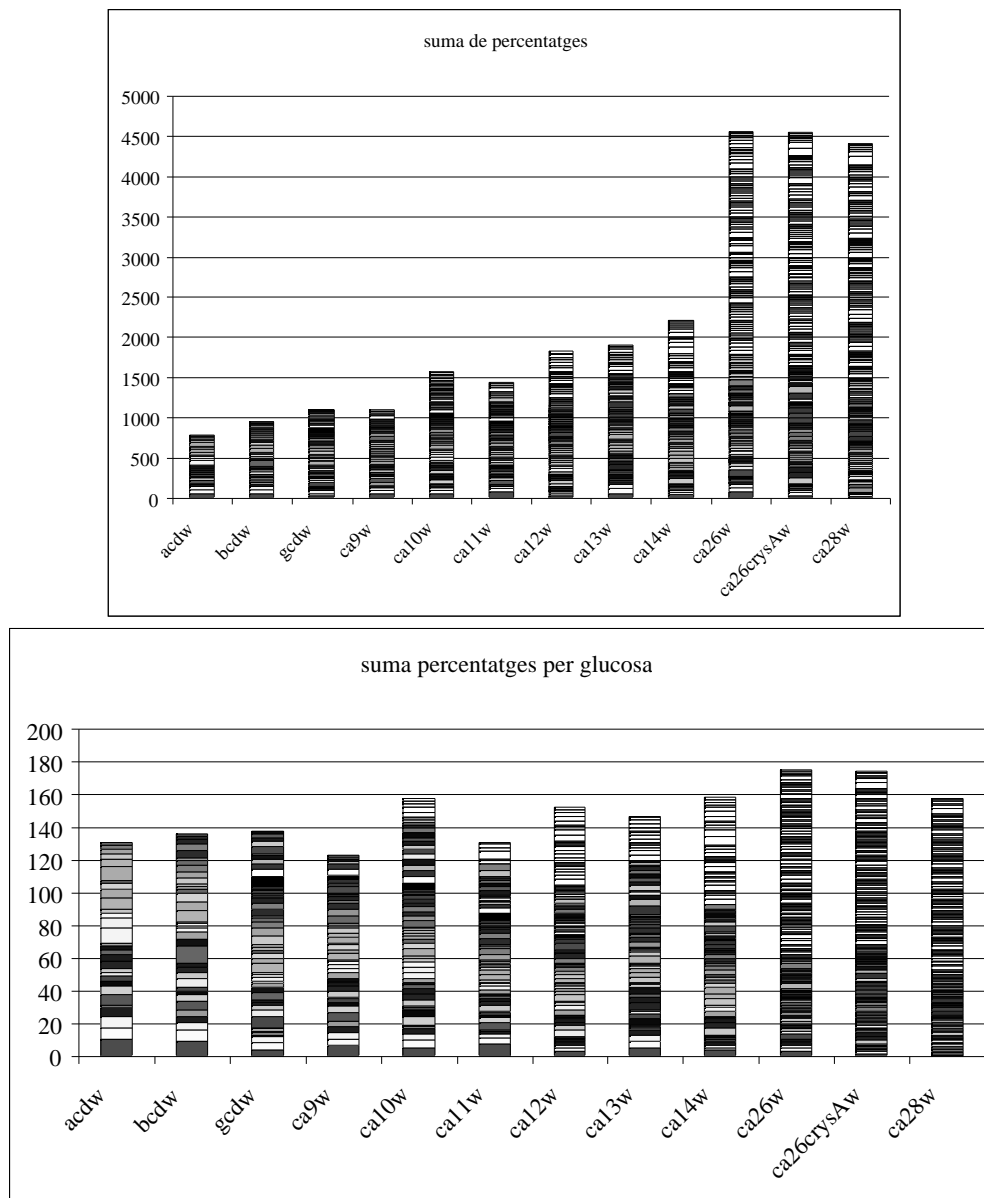


Figura 76 Gràfiques indicatives del nombre d'enllaços d'hidrogen intermoleculars en cada CA estudiada (en solució aquosa). La primera gràfica és el nombre total d'enllaços presents en cada CA i la segona gràfica és el mateix valor però dividit pel nombre de glucoses de cada CA.

| Angle C-O-C cicloamilosa | Fase gas | | | | En solució aquosa | | | | Experimental (raigs X) |
|--------------------------------|----------|------|--------|--------|-------------------|------|--------|--------|---------------------------|
| | avg | dev | màx | min | avg | dev | màx | min | avg |
| CA6 | 115.29 | 2.66 | 125.00 | 106.81 | 115.22 | 2.61 | 124.04 | 106.35 | 119.0 |
| CA7 | 115.10 | 2.44 | 123.75 | 106.11 | 115.28 | 2.64 | 124.72 | 106.31 | 117.7 |
| CA8 | 114.33 | 2.14 | 123.39 | 106.07 | 115.64 | 2.58 | 124.64 | 106.54 | 112.6 |
| CA9 | 115.39 | 2.38 | 123.68 | 107.54 | 115.30 | 2.58 | 124.30 | 106.64 | |
| CA10 | 114.80 | 1.76 | 124.13 | 106.76 | 115.11 | 2.61 | 125.39 | 105.80 | |
| CA11 | 115.05 | 1.66 | 124.22 | 106.37 | 115.30 | 2.58 | 124.81 | 106.13 | |
| CA12 | 115.24 | 1.69 | 123.69 | 106.52 | 115.12 | 2.65 | 124.21 | 106.15 | |
| CA13 | 115.00 | 1.79 | 124.06 | 107.35 | 114.65 | 2.59 | 124.23 | 106.18 | |
| CA14 | 115.20 | 2.51 | 123.89 | 106.60 | 114.65 | 2.59 | 124.24 | 105.10 | |
| CA26 | 115.22 | 2.15 | 124.20 | 106.84 | 114.79 | 2.53 | 123.83 | 106.11 | |
| CA26crys | 114.54 | 2.18 | 123.82 | 106.61 | 114.79 | 2.53 | 123.86 | 105.80 | |
| CA28 | 114.92 | 2.22 | 123.80 | 106.37 | 114.93 | 2.60 | 124.49 | 105.64 | |

Taula 33 Valors de l'angle glucosídic en cada CA: calculats en fase gas, en solució aquosa i comparats amb els experimentals de raigs X.

L'angle de l'enllaç glucosídic, Taula 33, presenta molt poca variació i en tots els casos és de 115 graus, valor que correspon a l'angle de l'amilosa lineal. En els resultats experimentals, en canvi, observem com l'angle és major per la CA6 i va disminuint fins a un valor prou petit en la CA8, això és degut a la forma circular de les CA comunes que les obliga a adoptar aquests valors. En les CA calculades no es manté la forma circular i per tant l'angle pot adoptar el seu valor ideal (115).

| Angle O4··O4··O4 cicloamilosa | Fase gas | | | | En solució aquosa | | | | Experimental (raigs X) | | |
|-------------------------------------|----------|-------|--------|--------|-------------------|-------|--------|--------|------------------------|-------|-------|
| | avg | dev | màx | min | avg | dev | màx | min | avg | màx | min |
| CA6 | 118.52 | 8.56 | 146.00 | 88.65 | 114.73 | 6.51 | 141.27 | 86.23 | 119.9 | 122.3 | 116.9 |
| CA7 | 123.39 | 16.78 | 155.63 | 85.45 | 116.67 | 7.69 | 143.32 | 94.28 | 128.3 | 132.5 | 125.2 |
| CA8 | 124.83 | 5.75 | 145.74 | 100.56 | 123.46 | 6.88 | 150.03 | 97.75 | 134.9 | 136.9 | 133.5 |
| CA9 | 123.14 | 13.40 | 155.57 | 89.15 | 125.67 | 10.53 | 160.04 | 99.05 | 136.6 | 149.9 | 125.7 |
| CA10 | 125.94 | 10.21 | 146.65 | 97.79 | 120.96 | 8.03 | 152.60 | 93.02 | 138.2 | 145.9 | 126.7 |
| CA11 | 134.16 | 5.41 | 153.97 | 107.66 | 135.32 | 8.23 | 162.47 | 105.11 | | | |
| CA12 | 121.09 | 4.63 | 143.16 | 97.11 | 126.84 | 13.65 | 160.54 | 94.15 | | | |
| CA13 | 130.24 | 12.45 | 152.08 | 97.62 | 127.56 | 10.08 | 162.41 | 99.57 | | | |
| CA14 | 119.48 | 7.19 | 146.35 | 96.38 | 126.05 | 9.12 | 159.26 | 97.30 | 138.2 | 142.5 | 131.6 |
| CA26 | 128.73 | 12.84 | 155.50 | 98.94 | 131.50 | 8.69 | 164.39 | 104.90 | | | |
| CA26crys | 134.63 | 12.94 | 161.07 | 104.33 | 122.74 | 8.55 | 151.69 | 96.51 | | | |
| CA28 | 131.13 | 10.26 | 160.74 | 103.53 | 134.75 | 10.20 | 166.67 | 105.34 | | | |

Taula 34 Valors de l'angle entre els oxígens glucosídics en cada CA: calculats en fase gas, en solució aquosa i comparats amb els experimentals de raigs X.

En els resultats experimentals l'angle entre els oxígens glucosídics, tercera columna de la Taula 34, va augmentant de CA6 a CA8 i després es manté constant. Això és degut, igual que en l'anterior cas, a la forma circular de les CA comunes que les obliga a adoptar aquests valors; la CA6 ha d'adoptar valors molt petits per mantenir la forma circular, la CA8 en canvi l'ha d'adoptar molt més gran. En els nostres càlculs podem observar com de CA6 a CA8 l'angle també augmenta però té una variació molt major. Per a les altres CA el comportament no es igual (l'angle no augmenta amb el número de residus), ja que no es manté la forma circular i per tant l'angle pot adoptar un valor més lliure que fluctua molt més, de 90 a 160 graus.

| Diedre O4··O4··O4··O4 cicloamilosa | Fase gas | | En solució aquosa | |
|--|----------|-------|-------------------|-------|
| | diedre | dev | diedre | dev |
| CA6 | -0.38 | 16.06 | -3.76 | 10.64 |
| CA7 | -2.42 | 28.64 | -3.00 | 15.58 |
| CA8 | -1.78 | 13.22 | 1.09 | 13.63 |
| CA9 | 39.68 | 33.52 | -3.10 | 28.19 |
| CA10 | 33.90 | 28.83 | -12.59 | 19.33 |
| CA11 | -37.98 | 16.44 | -0.18 | 23.72 |
| CA12 | 15.89 | 17.49 | 17.50 | 38.75 |
| CA13 | 24.60 | 29.56 | -13.69 | 27.16 |
| CA14 | 13.06 | 15.78 | 10.57 | 34.25 |
| CA26 | 33.14 | 29.25 | 15.51 | 27.48 |
| CA26crys | -17.71 | 34.42 | -13.92 | 18.56 |
| CA28 | 21.39 | 34.37 | -6.32 | 31.80 |

Taula 35 Valors del diedre format pels oxígens glucosídics en cada CA: calculats en fase gas i en solució aquosa.

El diedre format pels oxígens glucosídics ens indica la coplanaritat d'aquests, en les dades experimentals, seguint la teoria del con truncat, és de 0 graus, tots els O4 es troben en el mateix pla. Però els valors resultants dels càlculs, Taula 35, ens indiquen que la coplanaritat es manté només en les ciclodextrines comunes i encara amb una gran desviació, pot adoptar moltes més formes com ja em vist en les figures, i el valor de diedre proper a zero prové d'una mitjana, és a dir que en global el diedre pot ser nul però cada glucosa té una certa inclinació (unes endavant i altres endarrera). A partir de la CA9 la desviació ja és molt major i es perd la coplanaritat, obtenim valors dels diedres de tot tipus (de -180 a 180), raó per la qual la mitjana no té cap sentit.

| Diedre <i>Flip</i> O3...C4...C1...O2 cicloamilosa | Fase gas | | En solució aquosa | |
|--|----------|-------|-------------------|-------|
| | diedre | dev | diedre | dev |
| CA6 | -11.03 | 17.06 | -13.97 | 11.52 |
| CA7 | -13.69 | 30.76 | -11.71 | 17.96 |
| CA8 | -61.69 | 10.87 | -7.99 | 15.40 |
| CA9 | -9.11 | 26.14 | -19.37 | 23.57 |
| CA10 | -21.06 | 13.01 | -24.71 | 16.07 |
| CA11 | -11.35 | 14.07 | -14.57 | 17.29 |
| CA12 | -22.82 | 10.46 | -24.61 | 27.20 |
| CA13 | 12.30 | 15.37 | -28.24 | 23.52 |
| CA14 | 1.30 | 15.14 | -30.12 | 25.39 |
| CA26 | -10.72 | 21.98 | -22.54 | 17.84 |
| CA26crys | -50.40 | 29.30 | -22.39 | 18.63 |
| CA28 | -2.93 | 22.13 | -24.79 | 24.60 |

Taula 36 Valors del diedre de *flip* en cada CA: calculats en fase gas i en solució aquosa.

El diedre *flip*, Taula 36, ens indica la posició relativa entre els hidroxils secundaris de glucoses adjacents; per a les CA en forma de con truncat aquest angle és proper a zero, i és de 180 quan hi ha una glucosa invertida (amb l'hidroxil primari a la posició dels secundaris). Lluny d'aquests valors tan clars, en els càlculs obtenim variacions molt grans, com ja he vist en les figures tenim deformacions de l'estructura de con ja en la CA6. Igual que en el diedre anterior, les variacions són molt grans i el valor promig del diedre no té cap sentit. Analitzant els valors d'aquest diedre per a cada residu de glucosa al llarg de la simulació, obtenim que la majoria de valors es troben al voltant de zero (glucoses adjacents en la mateixa línia), de 120 (inclinades cap endins) i de -120 graus (inclinades cap enfora) per a totes les CA estudiades. A partir de la CA11 apareix una nova franja de valors al voltant dels 180 graus (glucoses invertides) que es conserva en totes les CA excepte en la CA26 que manté una mica la forma cristal·lina. Com a exemple es mostra el cas de la CA13 i la CA28 en solució aquosa, a la Figura 77.

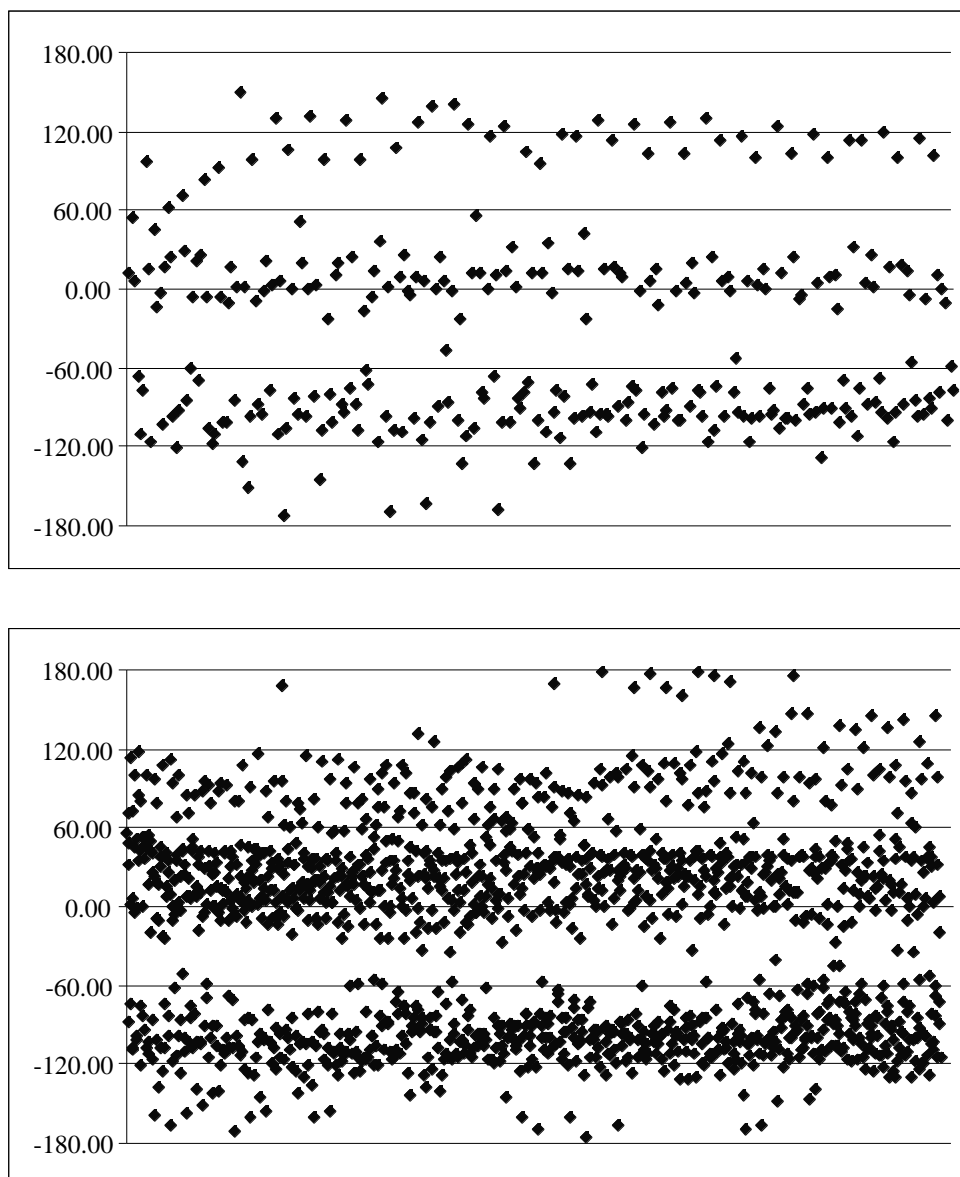


Figura 77 Valors que adopta l'angle *flip* en la simulació de CA13 (a sobre) i de la CA28 (a sota) ambdues en solució aquosa. Majoritàriament concentrats en 120, 0 i -120 graus, amb alguns propers a 180.

| Diedre ψ C1...O4-C4-C3 cicloamilosa | Fase gas | | En solució aquosa | | Experimental (raigs X) diedre |
|--|----------|-------|-------------------|-------|-------------------------------------|
| | diedre | dev | diedre | dev | |
| CA6 | 89.71 | 16.76 | 24.68 | 10.05 | 128.8 |
| CA7 | 94.73 | 27.85 | 90.68 | 14.88 | 127.6 |
| CA8 | 111.00 | 9.03 | 114.12 | 12.57 | 127.1 |
| CA9 | 84.27 | 22.60 | 108.78 | 18.07 | 124.7 |
| CA10 | 85.12 | 8.80 | 78.81 | 14.48 | 106.1 |
| CA11 | 83.23 | 9.82 | 70.75 | 12.30 | |
| CA12 | 44.22 | 7.84 | 135.85 | 19.67 | |
| CA13 | 117.71 | 12.85 | 87.40 | 21.35 | |
| CA14 | 95.30 | 10.39 | 95.22 | 20.34 | 112.6 |
| CA26 | 87.30 | 15.49 | 73.85 | 12.48 | |
| CA26crys | 91.00 | 22.51 | 54.17 | 14.69 | |
| CA28 | 54.30 | 16.41 | 94.67 | 16.53 | |

Taula 37 Valors del diedre en cada CA: calculats en fase gas, en solució aquosa i comparats amb els experimentals de raigs X.

| Diedre ϕ O1-C1...O4-C4 cicloamilosa | Fase gas | | En solució aquosa | | Experimental (raigs X) diedre |
|--|----------|-------|-------------------|-------|-------------------------------------|
| | diedre | dev | diedre | dev | |
| CA6 | 78.15 | 11.71 | 82.70 | 9.84 | 109.2 |
| CA7 | 79.98 | 16.39 | 89.03 | 14.42 | 109.8 |
| CA8 | 70.17 | 9.67 | 68.71 | 11.04 | 108.9 |
| CA9 | 59.98 | 11.78 | 70.98 | 16.92 | 112.1 |
| CA10 | 61.84 | 9.07 | 60.09 | 12.10 | 99.4 |
| CA11 | 79.42 | 7.76 | 89.88 | 11.65 | |
| CA12 | 87.18 | 7.62 | 81.07 | 23.67 | |
| CA13 | 85.67 | 11.15 | 67.55 | 11.86 | |
| CA14 | 68.06 | 9.09 | 65.07 | 19.39 | 103.4 |
| CA26 | 79.76 | 16.30 | 71.87 | 14.27 | |
| CA26crys | 77.58 | 15.56 | 75.33 | 11.17 | |
| CA28 | 61.32 | 15.11 | 82.97 | 18.05 | |

Taula 38 Valors del diedre en cada CA: calculats en fase gas, en solució aquosa i comparats amb els experimentals de raigs X.

Els diedres que normalment s'utilitzen per a obtenir l'orientació relativa entre glucoses veïnes són ψ i ϕ . Les glucoses es troben en la mateixa orientació si aquests diedres es situen entre 97 i 135 per ψ i entre 94-110 per ϕ , i estan invertides si aquests

són de -65 a -69 per ϕ i de 82 a 84 per ψ . Com es pot observar en els resultats experimentals, tercera columna de la Taula 37 i de la Taula 38 per ϕ i ψ respectivament, les glucoses es troben en orientació “normal”, és a dir, com es dibuixen sempre les ciclodextrines. En canvi, els valors obtinguts dels càlculs ens mostren una gran variabilitat de diedres per totes les CA, ja en la CA6 els diedres es desvien dels experimentals, primera gràfica de la Figura 78, i tenim altres tipus d'orientacions, com ja em observat en les estructures. Per a CA més grans ja hi ha molta més variació i els diedres poden agafar valors de -180 a 180 en cada cas, segona gràfica de la Figura 78. Així doncs, els valors promig dels diedres tampoc tenen cap sentit.

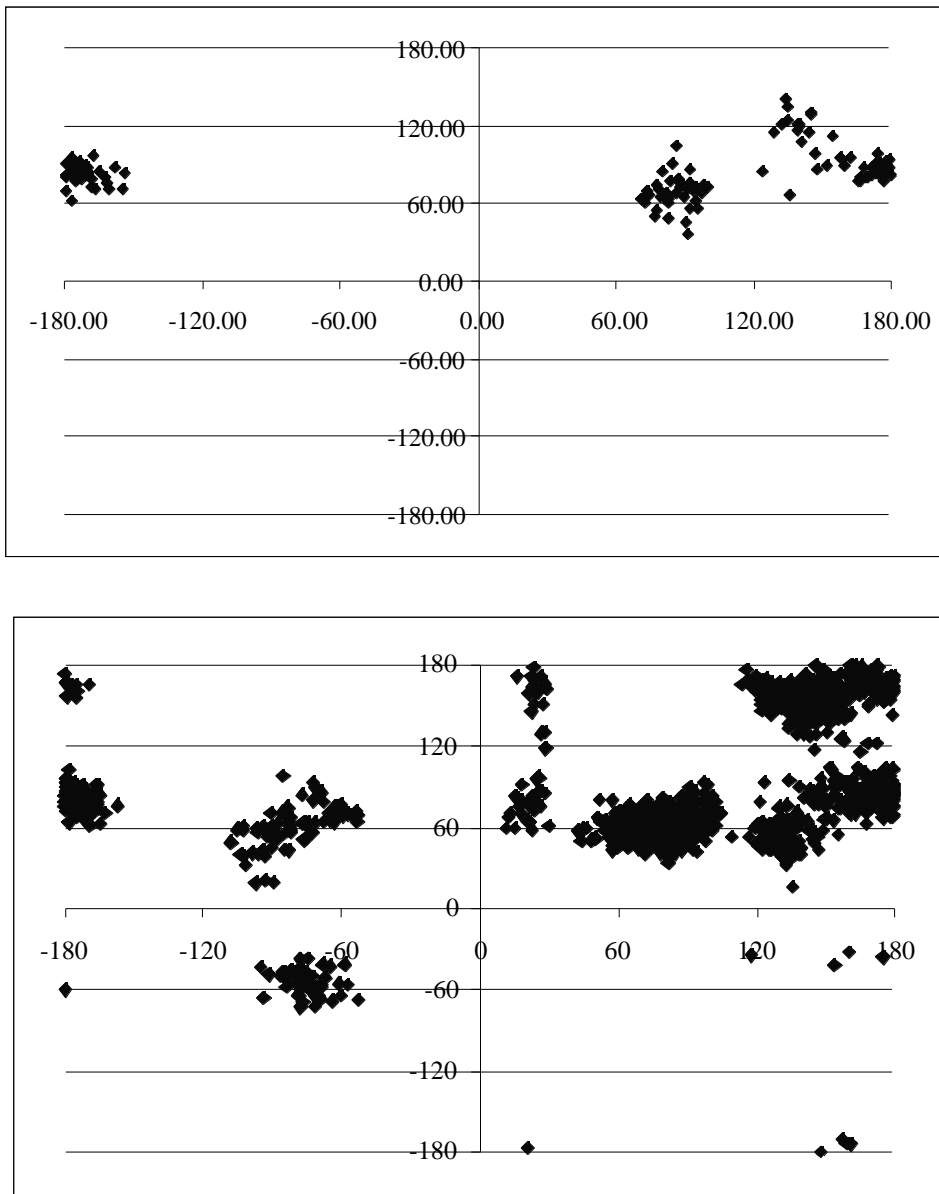


Figura 78 Variació del diedre (eix X) respecte (eix Y) en les simulacions de CA6 (sobre) i CA28 (sota) en solució aquosa.

NOTA: És important ressaltar que el programa CARNAL (per analitzar les distàncies, angles i diedres) ens dóna valors promig (avg), el valor mínim i el valor màxim (min. i màx.) i la desviació estàndard (dev) per cada paràmetre de cada glucosa. Així per la CA28 obtindrem el valor promig de la distància O2...O3 (per exemple) entre cada una de les glucoses; vint-i-vuit valors promig de distància, i els corresponents mínim, màxim i desviació. En les taules presentades es mostra la mitjana de valors de totes les glucoses d'una CA, per tant, els valors màxim i mínim no tenen sentit estricte, són una aproximació. El valor promig té sentit en aquells paràmetres que no varien massa en cada glucosa, com és el cas de les distàncies i dels angles. En canvi, pels diedres, cada glucosa pot tenir un valor diferent (de -180 a 180) i aleshores la mitjana ja no té sentit. Els valors de desviació presentats són prou indicatius; també són una mitjana de la desviació que presenta cada glucosa, però totes tenen una desviació similar.

10.11.2 ENERGIA PEL MÈTODE MM/PBSA

També s'ha avaluat, per a cada CA, la seva energia pel mètode MM/PBSA. Els resultats es mostren a la Taula 39 per les CA en fase gas i a la **Taula 40** per les CA en solució aquosa. S'han dividit els valors energètics obtinguts per cada CA pel nombre de glucoses que la conformen, per tal de comprovar si s'observa variació d'energia per glucosa (i quin/s terme/s) en les diferents CAs.

| fase gas ps/freq* | CA6 | CA7 | CA8 | CA9 | CA10 | CA11 | CA12 | CA13 | CA14 | CA26 | CA26crys | CA28 |
|----------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | 2000ps/10 | 2000ps/10 | 2000ps/10 | 2000ps/10 | 5000ps/25 | 5000ps/25 | 5000ps/25 | 5000ps/25 | 5000ps/25 | 5000ps/25 | 5000ps/25 | 5000ps/25 |
| Eelectrostat | 139.7 | 159.9 | 180.6 | 208.4 | 231.8 | 246.1 | 248.8 | 286.5 | 311.4 | 581.2 | 569.7 | 620.2 |
| EvdW | 12.7 | 11.7 | 20.5 | 11.1 | 9.0 | 6.2 | 0.9 | 10.5 | 5.7 | -16.8 | -15.3 | -18.4 |
| Einternal | 183.9 | 190.8 | 211.6 | 246.1 | 234.5 | 264.2 | 295.0 | 318.0 | 293.1 | 728.2 | 679.7 | 769.7 |
| Egas | 336.3 | 362.4 | 412.7 | 465.6 | 475.3 | 516.5 | 544.8 | 615.0 | 610.2 | 1292.6 | 1234.1 | 1371.5 |
| desviació | 9.0 | 36.1 | 42.4 | 38.6 | 46.5 | 62.1 | 70.1 | 63.8 | 23.2 | 95.9 | 88.8 | 89.7 |

| per glucosa | CA6 | CA7 | CA8 | CA9 | CA10 | CA11 | CA12 | CA13 | CA14 | CA26 | CA26crys | CA28 |
|--------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|----------|------|
| Eelectrostat | 23.3 | 22.8 | 22.6 | 23.2 | 23.2 | 22.4 | 20.7 | 22.0 | 22.2 | 22.4 | 21.9 | 22.2 |
| EvdW | 2.1 | 1.7 | 2.6 | 1.2 | 0.9 | 0.6 | 0.1 | 0.8 | 0.4 | -0.6 | -0.6 | -0.7 |
| Einternal | 30.6 | 27.3 | 26.5 | 27.3 | 23.5 | 24.0 | 24.6 | 24.5 | 20.9 | 28.0 | 26.1 | 27.5 |
| Egas | 56.0 | 51.8 | 51.6 | 51.7 | 47.5 | 47.0 | 45.4 | 47.3 | 43.6 | 49.7 | 47.5 | 49.0 |

* Ps/freq representa el temps de simulació (en ps) utilitzat en cada CA i la freqüència amb què s'han analitzat les estructures. Per exemple 2000/10 significa una simulació de DM de 2000 ps i s'ha analitzat una de cada 10 de les 2000 estructures guardades, unes 200 estructures per fer el càlcul MM/PBSA.

Taula 39 Resultats de MM/PBSA (tot en kcal/mol) obtinguts per cada cicloamilosa en les dinàmiques en fase gas. També es presenten els mateixos resultats en funció del nombre de glucoses de cada cicloamilosa, és a dir l'energia mitjana d'una glucosa en cada cicloamilosa.

| fase aquosa ps/freq | CA6 | CA7 | CA8 | CA9 | CA10 | CA11 | CA12 | CA13 | CA14 | CA26 | CA26crys | CA28 |
|------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | 2000ps/10 | 2000ps/10 | 2000ps/10 | 2000ps/10 | 5000ps/25 | 5000ps/25 | 2370ps/10 | 2610ps/10 | 5000ps/25 | 2598ps/25 | 3607ps/25 | 5000ps/25 |
| Eelectrostat | 171.3 | 198.6 | 236.1 | 264.0 | 288.9 | 327.4 | 352.5 | 375.5 | 405.2 | 740.3 | 743.2 | 815.1 |
| EvdW | 11.3 | 12.7 | 13.4 | 16.3 | 7.6 | 28.5 | 17.6 | 11.4 | 13.0 | 20.5 | -6.6 | 25.4 |
| Einternal | 182.8 | 213.2 | 245.7 | 272.7 | 302.2 | 333.8 | 370.9 | 388.7 | 417.5 | 790.6 | 775.2 | 858.3 |
| Egas | 365.5 | 424.6 | 495.2 | 553.1 | 598.7 | 689.7 | 741.0 | 775.5 | 835.7 | 1551.4 | 1511.8 | 1698.8 |
| E(nonpolar) | 6.2 | 6.8 | 7.6 | 8.4 | 8.5 | 10.6 | 10.2 | 10.6 | 11.2 | 18.5 | 16.6 | 20.1 |
| E(PB) | -129.1 | -146.0 | -171.1 | -190.4 | -199.5 | -242.4 | -248.8 | -257.1 | -275.2 | -483.6 | -461.2 | -539.5 |
| E(solvatació) | -122.9 | -139.1 | -163.5 | -182.0 | -191.0 | -231.9 | -238.6 | -246.5 | -263.9 | -465.1 | -444.6 | -519.4 |
| E(PB+elect) | 42.2 | 52.6 | 65.1 | 73.6 | 89.4 | 84.9 | 103.7 | 118.4 | 130.0 | 256.7 | 282.0 | 275.6 |
| E(total,PB) | 242.6 | 285.4 | 331.7 | 371.1 | 407.7 | 457.8 | 502.3 | 529.1 | 571.8 | 1086.2 | 1067.1 | 1179.5 |
| desviació | 6.0 | 6.8 | 7.9 | 7.5 | 8.8 | 9.1 | 9.5 | 11.3 | 12.8 | 16.9 | 18.0 | 19.6 |

| per glucosa | CA6 | CA7 | CA8 | CA9 | CA10 | CA11 | CA12 | CA13 | CA14 | CA26 | CA26crys | CA28 |
|---------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|----------|-------|
| Eelectrostat | 28.5 | 28.4 | 29.5 | 29.3 | 28.9 | 29.8 | 29.4 | 28.9 | 28.9 | 28.5 | 28.6 | 29.1 |
| EvdW | 1.9 | 1.8 | 1.7 | 1.8 | 0.8 | 2.6 | 1.5 | 0.9 | 0.9 | 0.8 | -0.3 | 0.9 |
| Einternal | 30.5 | 30.5 | 30.7 | 30.3 | 30.2 | 30.3 | 30.9 | 29.9 | 29.8 | 30.4 | 29.8 | 30.7 |
| Egas | 60.9 | 60.7 | 61.9 | 61.5 | 59.9 | 62.7 | 61.7 | 59.7 | 59.7 | 59.7 | 58.1 | 60.7 |
| E(nonpolar) | 1.0 | 1.0 | 0.9 | 0.9 | 0.9 | 1.0 | 0.8 | 0.8 | 0.8 | 0.7 | 0.6 | 0.7 |
| E(PB) | -21.5 | -20.9 | -21.4 | -21.2 | -20.0 | -22.0 | -20.7 | -19.8 | -19.7 | -18.6 | -17.7 | -19.3 |
| E(solvatació) | -20.5 | -19.9 | -20.4 | -20.2 | -19.1 | -21.1 | -19.9 | -19.0 | -18.9 | -17.9 | -17.1 | -18.5 |
| E(PB+elect) | 7.0 | 7.5 | 8.1 | 8.2 | 8.9 | 7.7 | 8.6 | 9.1 | 9.3 | 9.9 | 10.8 | 9.8 |
| E(total,PB) | 40.4 | 40.8 | 41.5 | 41.2 | 40.8 | 41.6 | 41.9 | 40.7 | 40.8 | 41.8 | 41.0 | 42.1 |

Taula 40 Resultats de MM/PBSA (tot en kcal/mol) obtinguts per cada cicloamilosa en les dinàmiques en solució aquosa. També es presenten els mateixos resultats en funció del nombre de glucoses de cada cicloamilosa, és a dir l'energia mitjana d'una glucosa en cada cicloamilosa.

En tots els casos obtenim unes desviacions bastant grans, sobretot en el cas de la CA en fase gas ja que aquestes tenen més mobilitat i, com hem observat en les figures, es repleguen i es tornen a desplegar. Les CA en solució no tenen una desviació tan gran (tot i que ho és) ja que es mantenen plegades. S'ha intentat relacionar l'energia del mètode MM/PBSA de les CA amb la seva estructura, per exemple observant si la variació d'energia segueix la variació del RMS, però no s'ha trobat cap relació aparent. L'energia MM/PBSA presenta moltes variacions en cada estructura però al tenir tants àtoms i paràmetres el resultat global no ens indica res, si per exemple una estructura amb un cert replegament allibera tensió d'uns angles, uns altres angles o diedres o

distàncies es troben tensionats i així el resultat final (suma de tots) no té relació clara amb l'estructura; al resultat global hi intervenen molts factors. El mateix ens ocorre en tots els casos, però si calculem l'energia per glucosa en cada CA (part inferior de la Taula 39 i de la **Taula 40**) ja es pot observar alguna relació entre l'energia i el nombre de glucoses en cada CA:

- **En fase gas**, part inferior de la Taula 39, és on observem més variació en els valors segons la CA. L'energia per glucosa es veu afectada bàsicament per la energia interna (E_{internal}), la CA6 està molt tensionada i és la que presenta la pitjor energia (56 kcal/mol), per les CA7, CA8 i CA9 ja s'observa una millora energètica (unes 52 kcal/mol) al poder adoptar altres estructures menys tensionades. L'energia per glucosa és més favorable encara de CA10 a CA14 (unes 47), sobretot en CA12 (45.4 kcal/mol, degut a una millor energia electrostàtica, a causa del seu plegament en dos simètric que manté els enllaços d'hidrogen) i en la CA14 (43.6 kcal/mol, en aquest cas per una energia interna molt menys desfavorable, ja que s'enrotlla sobre sí mateixa al desplegar-se per alliberar tensió). En les CA majors l'energia augmenta una mica situant-se a unes 50 kcal/mol, amb un petit descens per la CA26 partint de l'estructura cristal·lina (47.5 kcal/mol, presenta millor energia interna i electrostàtica que la CA26).
- **En solució aquosa** l'energia per glucosa, part inferior de la Taula 40, presenta molta menys variació respecte la CA, els valors són més constants. L'energia total, $E(\text{total,PB})$, es manté en totes les CA a unes 41 kcal/mol. Degut a l'energia de solvatació polar, $E(\text{PB})$, favorable (unes -20 kcal/mol

en totes les CA) l'energia per glucosa obtinguda de les simulacions en solució aquosa és sempre més favorable que l'energia de les simulacions en fase gas.

| Energia per glucosa kcal/mol | CA en fase gas | | CA en solució aquosa | | diferència aigua - gas |
|---------------------------------|----------------|------------|----------------------|-----------|---------------------------|
| | promig | desviació | promig | desviació | |
| Eelectrostat | 22.4 | 0.7 | 29.0 | 0.4 | 6.6 |
| EvdW | 0.7 | 1.1 | 1.3 | 0.7 | 0.6 |
| Einternal | 25.9 | 2.6 | 30.3 | 0.4 | 4.4 |
| Egas | 49.0 | 3.4 | 60.6 | 1.3 | 11.6 |
| E(nonpolar) | | | 0.9 | 0.1 | 0.9 |
| E(PB) | | | -20.2 | 1.3 | -20.2 |
| E(solvatació) | | | -19.4 | 1.2 | -19.4 |
| E(total,PB) | 49.0 | 3.4 | 41.2 | 0.5 | -7.8 |

Taula 41 Promig i desviació estàndard de l'energia MM/PBSA per glucosa de totes les CA, en fase gas i en solució aquosa, i la diferència entre aquestes.

Es poden observar variacions entre el promig de l'energia per glucosa de les CA en fase gas i de les CA en solució aquosa, Taula 41. Els valors de desviació estàndard ens mostren que la variació de l'energia per glucosa en cada CA és important només en el cas de les simulacions en fase gas (amb una desviació de 3.4) i sobretot degut a la desviació en l'energia interna. En solució aquosa l'energia total per glucosa és més favorable (-7.8 kcal/mol) que en fase gas. En fase gas tenim una millor energia electrostàtica (6.6 kcal/mol millor que en solució aquosa) i una millor energia interna (4.4 kcal/mol) però l'energia de solvatació polar capgira el resultat i fa que les glucoses en solució aquosa presentin millor energia que en fase gas.

Al posar la CA en solució es trenquen i disminueixen els enllaços d'hidrogen entre glucoses provocant la pèrdua d'energia electrostàtica però afavorint la interacció de la CA amb l'aigua provocant així la millor solvatació. L'energia interna és més favorable en fase gas degut a que la seva llibertat de moviment permet plegaments i desplegaments de l'estructura que adapten la tensió de la CA, en canvi, en solució

aquosa aquest moviment es produeix però és més lent i costós; només es produeixen plegaments però no es torna a desplegar, degut a que s'han de desplaçar molècules d'aigua i també es prefereix tenir les CA plegades oferint la menor superfície al solvent, tot i que la relació energia-estructura no és gaire clara.

10.12 DISCUSSIÓ DELS RESULTATS

S'ha realitzat un estudi estructural de les cicloamiloses en fase gas i en solució aquosa. És important conèixer el seu comportament per tal d'interpretar correctament els processos de complexació a què poden donar lloc. Per a les simulacions de dinàmica molecular s'ha partit de l'estructura de les dades cristal·lines (per a les CA comunes) i s'obté un gran ventall d'estructures, tot i que potser no s'han trobat totes les possibles ja ens dona una idea de les seves variacions.

Per a les CA comunes (α-, β- i γ-CyD, o CA6, CA7 i CA8) ja s'observen deformacions importants respecte l'estructura de con truncat que se'ls suposa. Algunes glucoses col·lapsen cap a l'interior resultant en estructures el·líptiques que presenten una cavitat molt menys accessible, també hi ha algunes glucoses invertides. Aquestes deformacions poden ocórrer, al llarg del temps, en diferents glucoses i així l'estructura promig resultant de totes les variacions es pot acabar assimilant a l'estructura clàssica de con truncat observada per raigs X.

Per a les CA majors, de CA9 a CA14, les deformacions són molt més importants i ja és impossible pensar en l'estructura de con truncat, ni en termes d'estructura promig. Hi ha moltes glucoses invertides i s'observen girs en la cadena. A partir de la CA10, s'acostumen a plegar en dos, estabilitzant-se per enllaços d'hidrogen entre glucoses no adjacents. En fase gas s'acaben desplegant però en solució aquosa es mantenen plegades

i no presenten cap cavitat. La CA11 no es plega, potser degut al número imparell de glucoses o a una DM no prou llarga.

Per a les CA més grans estudiades, CA26 i CA28, els girs i replegaments són molt variats. En fase gas s'acaben desplegant resultant en una línia amb glucoses invertides i girs. En solució es mantenen els replegaments. L'estructura cristal·lina de la CA26 és una hèlix doble molt simètrica amb dues cavitats clares, però les simulacions realitzades no ens han permès arribar aquesta estructura partint de la CA26 desplegada, si partim de l'estructura cristal·lina en fase gas s'acaba desplegant i en solució és manté una banda però es va deformant. Tot i això, les característiques i girs d'aquesta estructura es poden observar en algunes parts de les estructures obtingudes per a les CA estudiades. Dels nostres resultats es desprèn que, en el cas de la CA26, l'estructura cristal·lina no és representativa de la conformació en solució, només és un patró possible de tots els que hi ha. Potser amb l'ajuda d'alguna molècula motlle es podrien afavorir certes conformacions i es podria obtenir l'estructura cristal·lina en solució, la molècula motlle substituiria, en solució, l'efecte de l'empaquetament cristal·lí en el manteniment de l'estructura.

Aquest és un estudi preliminar i, com a tal, no en podem obtenir massa informació clara però sí que ens indica les vies a seguir i quines descartar. L'interès en les estructures de les CA ve promogut per la possibilitat de formar complexos d'inclusió; les CA comunes tenen una capacitat complexant coneguda gràcies a la seva cavitat, les CA intermitges (CA9 -> CA14) presenten una estructura més deformada amb una cavitat poc clara que podria donar lloc a complexos molt específics que s'hi puguin encabir. Les CA majors (CA26 -> CA28 i més) presenten moltes varietats estructurals i no tenen cavitat definida, tot i això certs replegaments en forma d'hèlix són possibles i deixen una cavitat que pot acollir molècules, amb les molècules adequades es poden

afavorir aquestes estructures i formar complexos d'inclusió. Aquesta via és potser la més interessant ja que aquests complexos d'inclusió encara són desconeguts i poden presentar propietats característiques o poden diferenciar molècules prou grans per ocupar la llarga cavitat discriminant les més petites en la formació dels complexos. Ja s'ha observat que la CA50 (refències 64, a la pàgina 50) en presència d'alcohols o àcids de cadena llarga presenta canvis que podrien ser deguts a la formació de complexos d'inclusió.

RESUM FINAL

S'ha estudiat l'equilibri conformacional del clorociclohexà en el clúster tiourea/clorociclohexà. S'ha pogut reproduir l'estructura cristal·lina dels canals de tiourea i simular els moviments de les diverses molècules de clorociclohexà incloses mitjançant la dinàmica molecular. S'han determinat les posicions preferents que adopta el ciclohexà dins els canals. Els resultats obtinguts apunten a la hipòtesis que la preferència de la conformació axial del clorociclohexà dins els canals prové del major compactament que s'obté amb aquesta conformació.

S'ha estudiat l'equilibri conformacional axial-equatorial, i les barreres energètiques, del ciclohexanol i del ciclohexà i la seva possible modificació per la formació de complexos d'inclusió amb la α -ciclodextrina. Tot i que la MM i la DM no s'acostumen a utilitzar per avaluar barreres energètiques han resultat ser una metodologia vàlida per processos simples com el *flipping*. L'equilibri conformacional i les barreres energètiques de les espècies isolades s'han reproduït adequadament. En els complexos d'inclusió, el ciclohexanol altera completament el seu equilibri degut a la formació preferent d'enllaços d'hidrogen en la conformació axial. Tot i això, en els estudis experimentals no s'observa diferència en l'equilibri conformacional del ciclohexanol per la complexació, cal destacar que els càlculs han estat realitzats en fase gas i a més els enllaços d'hidrogen estan sobreestabilitzats, però la metodologia és adient per a avaluar barreres.

Aquests dos primers capítols, així com els estudis del treball de recerca, han estat realitzats amb el programa MacroModel, els següents han estat realitzats amb el programa AMBER ja que aquest permet la utilització de molècules de solvent explícites

i permet també emprar altres tècniques com les pertorbacions d'energia lliure (FEP) i la metodologia MM/PBSA per avaluar energies de complexació.

S'ha estudiat la capacitat d'enantiodiferenciació de la α -ciclodextrina per la formació de complexos d'inclusió amb la cizolirtina i el seu carbinol precursor. Els nostres estudis han revelat que diverses orientacions dels complexos són possibles tot i que algunes són preferents. L'enantiodiferenciació prové de l'estructura mitjana dels complexos diastereoisomèrics; la *S*-cizolirtina es troba més inclosa que la *R*-cizolirtina i presenta una orientació preferent, així, en promig, suporten diferents entorns químics. En els complexos amb carbinol la diferència entre estructures és menor i per tant presenta menys enantiodiferenciació, com també s'observa experimentalment.

S'ha estudiat la diferència en l'energia de complexació d'una molècula amb una funció ester front una amb una funció amida en la complexació amb un dímer de β -ciclodextrina unit per un pont disulfur. Mitjançant DM, FEP i MM/PBSA s'ha arribat a les mateixes conclusions; la major estabilitat de la complexació de l'ester prové de la major solubilitat de l'amida (l'ester és menys soluble i té més tendència formar el complex) i d'una energia interna desfavorable en el complex de l'amida degut a que les millors interaccions *guest-host* d'aquest forcen el complex a tensionar-se.

S'ha estudiat la complexació del bisadamantil-fosfat amb una o dues β -ciclodextrines i amb un dímer d'aquestes unides per un pont disulfur, per tal d'estudiar l'efecte quelat. S'ha determinat la geometria preferent de cada complex i la seva energia i interaccions mitjançant DM i MM/PBSA. L'entalpia de formació del complex quelat (amb el dímer unit pel pont disulfur) és més favorable que la complexació amb dues ciclodextrines degut a la pèrdua de solvatació i l'energia interna desfavorable del complex amb les dues CyD.

S'ha realitzat un estudi teòric de l'estructura i comportament de les cicloamiloses comunes i de CA majors, tant en fase gas com en solució. Les CA comunes presenten estructures diferents del con truncat que se'ls acostuma a assignar, més replegades. Les de tamany major encara presenten més plegament i girs. Els enllaços d'hidrogen entre glucoses adjacents no es mantenen i se'n formen d'altres, la cavitat típica de les ciclodextrines tampoc és manté. Les estructures cristal·lines no corresponen a les estructures calculades en solució; en les CA comunes es pot contemplar l'estructura cristal·lina com un promig de les possibles estructures en solució, però en les CA més grans s'observa més variació estructural i la diferència és notable, com en la CA26 que no manté l'estructura cristal·lina en solució al no presentar l'efecte d'empaquetament cristal·lí. Les CA grans ens obren una nova via d'investigació; presenten moltes possibilitats de plegaments i girs característics que es poden afavorir si es formen complexos d'inclusió amb les molècules adients, com ara àcids o alcohols de cadena llarga.

Finalment, cal destacar que els temes desenvolupats en aquest treball estan en continu estudi i desenvolupament, per exemple:

- Nous usos de dímers de ciclodextrina com a agents d'anàlisi de tumors⁸⁶.
- Noves tècniques que ens permetran realitzar comparacions més fiables entre les dades teòriques i les experimentals dels complexos d'inclusió, la magnitud i direcció del dicroïsme circular induït es pot relacionar amb l'orientació d'una molècula dins la CyD⁸⁷, també es pot relacionar una major o menor discriminació quiral amb la conformació que adopta el complex⁸⁸.

⁸⁶ Edwards, W.B.; Reichert, D.E.; d'Avignon, D.A.; Welch, M.J.; *Chem. Commun.*, **2001**, 1312.

⁸⁷ Mayer, B.; Zhang, X.; Nau, W.M.; Marconi, G.; *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, *123*, 5240.

- El camp dels complexos amb les cicloamiloses grans és nou i esperançador i ja es comencen a descobrir casos de complexació amb CA50 per exemple (referència 64, a la pàgina 50).
- Les metodologies i tècniques de càlcul també es van desenvolupant i n'apareixen de noves, els ordinadors també guanyen capacitat de càlcul, de manera que cada cop es poden estudiar processos més complexos i en temps més similars als reals.

⁸⁸ Hembury, G.; Rekharsky, M.; Nakamura, A.; Inoue, Y.; *Org. Lett.*, **2000**, 2 (21), 3257.

CONCLUSIONS

- Els equilibris conformacionals axial/equatorial dels ciclohexans monosubstituïts estudiats no es veuen afectats per la formació de complexos d'inclusió.
- L'enantiodiferènciació, per la complexació amb α -ciclodextrina, del carbinol i de la cizolirtina estudiats és deguda a diferències en la geometria promig dels complexos amb *R* i *S*, i no a diferències energètiques.
- El procés de reconeixement molecular, per la complexació amb un derivat dimèric de la β -ciclodextrina, de l'ester i l'amida estudiats és conseqüència de la solubilitat de les espècies isolades i de la "tensió interna" dels complexos.
- L'efecte quelat estudiat és degut al terme entàlpic i prové de la solubilitat i de l'energia interna dels complexos.
- Les estructures cristal·lines de les cicloamiloses estudiades no corresponen a les estructures calculades en fase gas i en solució aquosa. En les cicloamiloses comunes es pot contemplar l'estructura cristal·lina com un promig de les possibles estructures en solució, però en les cicloamiloses més grans s'observa més variació estructural.
- Com a conclusions de la metodologia emprada podem destacar que la MM i la DM són eines útils per a l'estudi dels complexos d'inclusió. Un mètode molt simple com el MM/PBSA ens ha resultat molt útil per avaluar energies de complexació i ens proporciona valuosa informació, tot i que convé contrastar-la i confirmar-la amb informacions obtingudes d'altres anàlisis com FEP, DM, enllaços d'hidrogen. En tots els càlculs realitzats s'ha d'ésser sempre molt conscient de les aproximacions i les limitacions de cada metodologia a l'hora d'avaluar els valors obtinguts.

METODOLOGIA

11 MÈTODES DE CÀLCUL

Fa tan sols una quinzena d'anys, la modelització⁸⁹ molecular, que inclou totes les metodologies que seguidament es descriuen, estava restringida a un petit nombre de científics que tenien accés als programari i maquinari necessari, havent-se de crear els seus programes i el seu sistema d'ordinadors així com mantenir-los. Actualment, les estacions de treball són més poderoses i relativament barates; l'avenç del PC també fa que siguin útils per a fer tasques abans restringides a les supercomputadores, a un preu molt inferior. El programari necessari és fàcil d'obtenir comercialment, bàsicament la dificultat està en triar quin utilitzar dels disponibles, que continuen proliferant. Els mètodes de càlcul s'acostumen a dividir en tres grans grups:

-Mètodes *ab initio*; són els que utilitzen l'equació de Schrödinger electrònica, la qual resolten mitjançant aproximacions estàndard. S'acostumen a utilitzar en problemes on es tracten com a màxim uns deu àtoms pesats. El programa Gaussian utilitza aquests conceptes.

-Mètodes semiempírics; són una modificació dels anteriors, on s'ometen algunes integrals de solapament per guanyar velocitat en els càlculs. Aquests ja poden tractar problemes on intervinguin uns 50 àtoms pesats. D'aquest tipus tenim els mètodes MNDO, INDO, AM1, PM3.

-Mètodes empírics o mecànica molecular; no tenen res a veure amb l'equació de Schrödinger, estan basats en el model Newtonià clàssic. No tenen en compte els

⁸⁹ Dugas H., "Modélisation Moléculaire. Stéréochimie et analyse conformationnelle". 2ème Ed., La Librairie de L'Université de Montreal, (1992).

electrons. Poden tractar molècules que continguin 1000 àtoms pesats. Programes amb aquesta filosofia, per exemple, són el MM3 i AMBER.

Els dos primers són mètodes quàntics i s'acostumen a aplicar per tractar problemes de reactivitat, degut a que en aquests casos intervenen els electrons i aquests mètodes els tenen en compte. En canvi, l'últim grup, són mètodes clàssics i la seva aplicació més important és en l'anàlisi conformacional. Aquesta diferenciació dels mètodes és molt grollera i antiquada ja, degut a l'avenç constant de les metodologies computacionals, paral·lel a l'evolució del programari i maquinari informàtic i les supercomputadores. Últimament estan sorgint gran varietat de programes que inclouen diferents metodologies, com els anomenats QM/MM (*Quantum Mechanics/Molecular Mechanics*) que utilitzen la química quàntica per tractar la part reactiva o la que conté importants efectes electrònics i la mecànica molecular per tractar la resta del sistema, o els mètodes ONIOM⁹⁰ que tracten un sistema dividint-lo en diferents capes, cada una de les quals és tractada a diferents nivells (*ab initio* amb bases d'alt nivell per a la capa més interna i va reduint el nivell de la base en les altres capes fins a arribar a mètodes semiempírics o de mecànica molecular), també han avançat molt els mètodes basats en la teoria del funcional de la densitat, DFT, ja capaços de tractar sistemes amb milers d'àtoms (com fa el programa SIESTA⁹¹).

⁹⁰ Svensson, M.; Humbel, S.; Froese, R. D. J.; Matsubara, T.; Sieber, S.; Morokuma, K., *J. Phys. Chem.*, **1996**, *100*, 50.

⁹¹ Sanchez-Portal D.; Ordejon P.; Artacho E.; Soler J. M.; *Int. J. Quantum Chem.* **1997**, *65*, 453.

12 MECÀNICA MOLECULAR

Molts dels problemes que es volen tractar mitjançant la modelització molecular són massa grans com per a ser considerats per mètodes de mecànica quàntica, ja que aquesta treballa amb els electrons del sistema, així que encara que s'ignorin alguns electrons (com es fa en els mètodes semi-empírics) s'ha de considerar un gran nombre de partícules i els càlculs requereixen temps elevats. Els mètodes de camps de forces, o de mecànica molecular, són els utilitzats quan s'ha de tractar un nombre elevat d'àtoms, i són els mètodes que hem triat per a realitzar aquesta tesi. En alguns casos, els camps de forces ens poden donar respostes tan acurades com els nivells més elevats de mecànica quàntica en una fracció del seu temps de càlcul. Però la mecànica molecular no ens pot donar propietats que depenen de la distribució electrònica d'una molècula. La mecànica molecular va néixer l'any 1930⁹² però no es començà a desenvolupar fins als anys seixanta, quan els ordinadors foren més assequibles, com va ocórrer amb la mecànica quàntica.

El fet que la mecànica molecular ens proporcioni bons resultats és degut a la validesa de diverses assumpcions. La primera és l'aproximació de Bohr-Oppenheimer sense la qual seria impossible la sola idea d'escriure l'energia d'una molècula com una funció de les coordenades nuclears. La mecànica molecular es basa en un model mecànic, és a dir, considera els àtoms com a masses de cert tamany i duresa (deformabilitat), i els enllaços com a molles de diferent força que uneixen aquestes masses. Els valors, paràmetres, d'aquestes forces provenen de valors experimentals

⁹² Andrews, D.H., *Phys. Rev.*, **1930**, 36, 544.

d'espectroscòpia vibracional, de difracció de raigs X o de valors obtinguts per mètodes *ab initio*. Un factor clau d'un camp de forces és que els paràmetres siguin **transferibles**, això permet que un conjunt de paràmetres desenvolupats i provats en un nombre relativament petit de casos sigui aplicable a un rang molt més ample de problemes. I, encara més, els paràmetres desenvolupats a partir de dades de molècules petites poden ser utilitzats per estudiar molècules molt més grans com ara polímers o proteïnes.

És un símil relativament bo per tractar les molècules però no té cap fonament físico-químic; les energies obtingudes són relatives a una situació ideal, on totes les distàncies i angles coincideixen amb els parametrizats, cada desviació d'aquesta situació ideal provoca un increment d'energia.

Desglossa l'energia del sistema ($SE=steric\ energy$) en un sumatori d'altres termes energètics.

$$SE = \sum E_{st}(l) + \sum E_{bnd}(\theta) + \sum E_{tors}(\phi) + \sum E_{elec} + \sum E_{nb}(r) + \text{termes creuats}$$

Cada un d'aquests termes és un sumatori d'altres subtermes. Així doncs, és un sumatori de sumatoris, i l'energia que obtindrem per un sistema de 1000 àtoms serà major que l'obtinguda per un de deu àtoms, per la simple raó que hi han més termes a sumar. Com l'energia així calculada depèn del nombre d'àtoms de la molècula, només podem comparar dades energètiques de molècules amb el mateix número i tipus d'àtoms, ja que aquesta energia estèrica per sí sola no té cap sentit físic.

Es poden dividir els termes energètics que constitueixen la SE en tres grups:

- Interacció entre àtoms enllaçats: avaluen l'energia associada a les interaccions entre àtoms units per enllaç químic (*stretching*, *bending*, torsional, torsions impròpies)
- Interacció entre àtoms no enllaçats: avaluen l'energia associada a les interaccions entre àtoms no enllaçats (electrostàtic, enllaç d'hidrogen, van der Waals)
- Termes creuats: són refinaments dels anteriors, simulen l'efecte entre dos dels termes citats, per exemple el que pot tenir la variació de la longitud d'un enllaç sobre un angle (*stretching-bending*).

El conjunt d'equacions i paràmetres amb els quals es calcularà l'energia es coneix com a Force Field (FFLD), és a dir, camp de forces. Existeix un ampli ventall de camps de forces per tractar diferents sistemes ja que són moltes les equacions i els paràmetres que es poden emprar i també es poden incloure més o menys termes en el sumatori de SE. Cada camp de forces s'ha de considerar com a una única entitat; dividir l'energia en els seus components individuals no és estrictament correcte, i encara és menys correcte agafar els paràmetres d'altres camps de forces i barrejar-los amb els paràmetres d'un altre. Tot i això, alguns termes són suficientment independents dels altres (sobretot els termes d'enllaç i angle) per a poder acceptar aquesta aproximació.

Els camps de forces més utilitzats i el seu domini d'aplicació són:

AMBER (Kollman)⁹³: proteïnes, àcids nucleics

CHARMM (Karplus)⁹⁴: proteïnes

CVFF (Hagler)⁹⁵: cerca de freqüències de vibració

⁹³ Weiner, P.K.; Kollman, P.A., *J. Comput. Chem.*, **1981**, 2, 287.

⁹⁴ Karplus, M., *J. Comput. Chem.*, **1983**, 4, 187.

⁹⁵ Ermer, O., *Struct. Bonding Berlin*, **1976**, 27, 161.

ECEPP (Scherega)⁹⁶: proteïnes

MM2⁹⁷, MM3⁹⁸, MM4⁹⁹ (Allinger): molècules orgàniques

BIOSYM (MSI)¹⁰⁰: proteïnes, molècules orgàniques

Sybyl (Tripos)¹⁰¹: molècules orgàniques

Els termes imprescindibles que ha de tenir en compte un FFLD són els de *stretching*, *bending*, torsional i van der Waals, a part d'aquests pot contenir altres termes o termes creuats que l'autor del programa consideri adequats per afinar el seus càlculs.

12.1 CAMP DE FORCES MM3

12.1.1 ENERGIA D'INTERACCIÓ ENTRE ÀTOMS ENLLAÇATS

12.1.1.1 Energia de deformació de l'esquelet molecular

La deformació de l'esquelet molecular es descriu en termes relatius a la deformació de les longituds d'enllaç (*stretching*) i dels angles d'enllaç (*bending*). Ambdós termes es tracten de manera anàloga, assumint com a situació d'energia mínima (pres com a valor de referència zero) aquella en que la distància d'enllaç (o el valor d'un angle en el cas

⁹⁶ Momany, F.A.; Carruthers, L.M.; McGuire, R.F.; Scheraga, H.A., *J. Phys. Chem.*, **1974**, 78, 1595.

⁹⁷ Allinger, N.L., *J. Am. Chem. Soc.*, **1977**, 99, 8127.

⁹⁸ Allinger, N.L.; Yuh, Y.H.; Lii, J-H., *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, 111, 8522.

⁹⁹ Allinger, N.L.; Chen, K.; Lii, J-H., *J. Comput. Chem.*, **1996**, 17, 642.

¹⁰⁰ Molecular Simulation Inc., San Diego.

¹⁰¹ Tripos Inc., St. Louis, MO 63144, USA.

del terme de *bending*) correspon a la parametritzada. Qualsevol desviació d'aquest punt provoca un augment en l'energia, que segueix un potencial harmònic amb forces recuperadores directament proporcionals al valor de la variació de la longitud d'enllaç (o de l'angle). La proporcionalitat s'estableix a través d'una constant pròpia de cada enllaç (i cada angle) coneguda com a constant de *stretching* (pels enllaços) i constant de *bending* (pels angles). Aquest model és bo quan la deformació és petita, però quan aquesta és més gran és produeixen desviacions de l'harmonicitat, i per això s'afegeixen a l'equació termes superiors del desenvolupament en sèrie, així s'obté una major similitud amb una funció tipus Morse.

En el camp de forces MM3, les equacions que regeixen aquests termes són:

$$E_{st} = 71,94 K_{stret} (l-l_0)^2 [1-2,55(l-l_0) + (7/12)2,55(l-l_0)^2]$$

$$E_{bnd} = 0,021914 K_{bnd} (\theta-\theta_0)^2 [1-0,014(\theta-\theta_0) + 5,6E-5(\theta-\theta_0)^2 -$$

$$- 0,07E-5(\theta-\theta_0)^3 + 0,0022E-5(\theta-\theta_0)^4]$$

On l_0 i θ_0 són la distància i l'angle ideal, K_{stret} i K_{bnd} les constants de *stretching* i de *bending* respectivament.

12.1.1.2 Deformació dels angles diedres impropis

És la deformació de l'angle format per tres àtoms units a un mateix àtom, com es veu en la **Figura 79**. Generalment es refereix a la deformació patida pels àtoms sp^2 , l'equació

que regeix aquest terme és harmònica, relacionant el potencial amb la deformació de l'angle indicat ξ mitjançant una constant característica K_ξ .

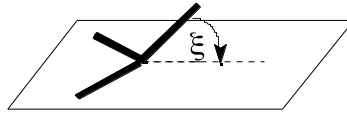


Figura 79 Angle diedre impropie .

$$E_\xi = 1/2 K_\xi (\xi - \xi_0)^2$$

12.1.1.3 Energia de torsió

És l'energia associada a la variació d'un angle diedre format per quatre àtoms, A-B-C-D (rotació de l'enllaç B-C). S'expressa mitjançant una funció periòdica desenvolupada en sèrie de Fourier truncada al tercer terme. Consta de tres membres, depenent cada un de l'angle diedre real (ω) i d'una constant per a cada tipus de diedre; V_1 , V_2 i V_3 , les quals depenen de la naturalesa dels quatre àtoms enllaçats.

$$E_t = 1/2 [V_1(1+\cos\omega) + V_2(1-\cos2\omega) + V_3(1+\cos3\omega)]$$

12.1.2 ENERGIA D'INTERACCIÓ ENTRE ÀTOMS NO ENLLAÇATS

12.1.2.1 Interaccions de van der Waals

L'energia de van der Waals és la que es genera al trobar-se dos àtoms no enllaçats a una distància determinada. Es tracta mitjançant una funció tipus Buckingham.

$$E_{\text{vdW}} = \varepsilon (1,84E 5 \exp (-12,0/P) - 2,25P^6)$$

On ε és la mitjana geomètrica de la duresa dels dos àtoms, P és el quocient entre la suma dels radis de van der Waals de cada àtom i la distància interatòmica real. El terme exponencial té efecte repulsiu al apropar massa els dos àtoms i el terme de P^6 és atractiu. Dins d'aquest terme també es consideren les interaccions d'enllaç d'hidrogen, amb una altra funció:

$$E_{\text{HB}} = (\varepsilon_{\text{HB}}/D) [1,84E 5 \exp (-12,0/P) - 2,25 P^6 \cos \theta (l/l_0)]$$

On ε_{HB} és el paràmetre energètic d'enllaç d'hidrogen, D la constant dielèctrica, P és el quocient entre la distància d'equilibri de l'enllaç d'hidrogen i la real, l_0 és la distància ideal de l'hidrogen a l'àtom al qual està unit, i l la distància real. θ és l'angle format entre els tres àtoms (X-H...X') que participen en l'enllaç d'hidrogen.

12.1.2.2 Interaccions electrostàtiques

Si es tracta una molècula neutra, el programa MM3 associa moments dipolars als enllaços, així, les interaccions electrostàtiques són interaccions dipol-dipol. Com també poden haver càrregues puntuals a les molècules, s'avaluen també les interaccions càrrega-dipol i càrrega-càrrega. En aquest treball només han estat estudiades molècules neutres amb aquest programa, per tant només es tenen en compte les interaccions dipol-dipol, les quals s'avaluen amb la funció següent:

$$E_{dd} = 14,39418 \mu_A \mu_B (\cos \chi - 3 \cos \alpha_A \cos \alpha_B) / R^3 \epsilon$$

On μ_A i μ_B són els dos moments dipolars, ϵ és la constant dielèctrica i χ , α_A , α_B i R són els mostrats a la **Figura 80**.

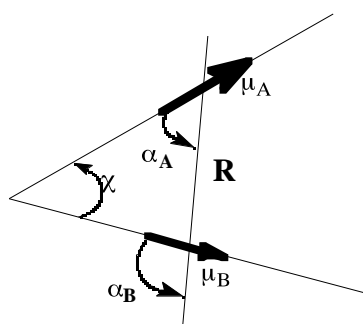


Figura 80 Paràmetres per avaluar la interacció entre dos dipols.

12.1.3 TERMES CREUATS

El camp de forces MM3 conté tres termes creuats (*stretching-bending*, *torsion-stretching* i *bending-bending*.) a fi de reproduir altres fenòmens moleculars com ara la variació de les longituds d'enllaç associades a la variació dels angles. Aquests tres termes es regeixen per següents equacions:

$$E_{sb} = 2,5111 K_{sb} [(l - l_0) + (l' - l'_0)] (\theta - \theta_0)$$

$$E_{ts} = 11,995 (K_{ts}/2) (l - l_0) (1 + \cos 3\omega)$$

$$E_{bb} = -0.021914 K_{\theta\theta'} (\theta - \theta_0) (\theta' - \theta'_0)$$

On K_{sb} , K_{ts} i $K_{\theta\theta'}$ són les constants dels termes creuats; l i l' les distàncies d'enllaç reals i l_0 i l'_0 les distàncies ideals; ; θ i θ' els angles d'enllaç reals i θ_0 i θ'_0 els ideals; ω és l'angle de torsió real.

12.1.4 EFECTE DEL SOLVENT

El solvent és tractat com un continu estadístic, d'aquesta manera ens proporciona energies i derivades analíticament i el podem incloure en un camp de forces de mecànica molecular. El mètode de solvatació més emprat és el GBSA¹⁰², aquest considera l'energia lliure de solvatació, G_{sol} , com a un sumatori de dos termes; G_{SA} és proporcional a l'àrea superficial de la molècula accessible al solvent ($SA = solvent-$

¹⁰² Still, W.C.; Tempczyk, A.; Hawley, R.C.; Hendrickson T., *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, *112*, 6127.

accessible surface area) i compren les interaccions no polars amb el solvent. El segon terme, G_{GB} , compren les interaccions polars amb el solvent i es tracta amb l'equació de Born generalitzada (GB).

$$G_{sol} = G_{SA} + G_{GB}$$

$$G_{SA} = \sum_k SA_k$$

$$G_{GB} = -166(1 - 1/\epsilon) \sum_{i,j} (q_i q_j / (r_{ij}^2 + r_i r_j) e^{-r_{ij}^2/4 r_i r_j})$$

On SA_k és la superfície accessible al solvent dels àtoms tipus k i r_k és un paràmetre empíric de solvatació. En el terme G_{GB} , la ϵ és la constant dielèctrica del medi, q_i i q_j les càrregues dels àtoms que interaccionen, r_{ij} la distància entre ells, r_i i r_j el radi dels àtoms.

D'aquesta manera s'introdueix l'efecte del solvent com un continu, el que se'n diu solvatació implícita, però per a obtenir un millor comportament del sistema estudiat volem veure les interaccions amb molècules d'aigua reals; crear una caixa de molècules d'aigua al voltant del nostre sistema i que aquests vagin interaccionant, és el que s'anomena solvatació explícita. Per tal de poder realitzar els càlculs amb solvatació explícita ens vam passar a la metodologia AMBER, descrita en el capítol 14.4.

13 DINÀMICA MOLECULAR

La mecànica molecular ens permet trobar mínims energètics d'un sistema, en alguns casos la informació obtinguda d'aquests mínims pot ser suficient per predir-ne acuradament les propietats, això ocorre quan es poden trobar TOTS els mínims de la superfície energètica del sistema, malauradament això només és possible per a molècules o sistemes supramoleculars petits en fase gas. Però molts cops, gairebé sempre, es desitja estudiar sistemes més complexos on existeixen molts mínims propers i moltes configuracions possibles, i amb la inclusió de molècules d'aigua explícites en el sistema encara es fa més complicat. Les mesures experimentals d'aquests sistemes són realitzades en mostres macroscòpiques que contenen un nombre de molècules extremadament elevat amb un enorme nombre de mínims possibles, la quantificació de la superfície energètica d'aquests no és possible, ni sembla que pugui arribar a ser-ho mai. Els mètodes de simulació ens permeten estudiar aquests sistemes i predir-ne les propietats mitjançant l'ús de tècniques que consideren petites replicacions del sistema macroscòpic amb un número manejable d'àtoms o molècules. La simulació genera configuracions representatives d'aquestes petites replicacions de tal manera que se'n poden extreure valors acurats de propietats estructurals i termodinàmiques en un temps de càlcul plausible. Les tècniques de simulació també permeten determinar els comportaments dependents del temps proveint-nos informació detallada de com un sistema canvia d'una determinada conformació o configuració a un altra. Les tècniques de simulació també s'utilitzen àmpliament en procediments experimentals com ara la determinació estructural de proteïnes per cristal·lografia de raigs X. Les tècniques de

simulació més comunes i emprades són la dinàmica molecular¹⁰³ i els mètodes Monte Carlo. En aquest treball s'ha utilitzat la dinàmica molecular i és la que passarem a explicar, els mètodes de Monte Carlo tenen un fonament estadístic (independent del temps) per generar les estructures i no han estat utilitzats, tot i que haurien hagut de donar lloc als mateixos resultats.

13.1 FONAMENTS TEÒRICS

Mitjançant els principis Newtonians de mecànica clàssica, aplicats a la molècula estudiada, permet simular la seva evolució al llarg del temps. També està fonamentada en la mecànica clàssica, i les equacions que avaluen l'energia del sistema són conceptualment iguals a les utilitzades en la mecànica molecular.

El camp de forces clàssic utilitzat defineix el sistema com un conjunt de masses unides per molles, regides per la llei Newtoniana $\mathbf{F}=\mathbf{m}(\delta^2\mathbf{x}/\delta t^2)$. \mathbf{F} és el vector de força que figura en el camp de forces emprat, \mathbf{m} és la massa de l'àtom en qüestió i \mathbf{x} el vector de posició d'aquest, així la única incògnita és \mathbf{t} el temps, el qual es troba integrant el sistema d'equacions. S'aporta energia al sistema escalfant-lo. L'increment de temperatura es transforma en un increment de l'energia, de valor $(3N-6)RT$ on N és el número d'àtoms del sistema. S'intenta que no tota l'energia vagi a moviments de rotació i translació, sinó a moviments interns del àtom del sistema, els quals amb aquesta velocitat s'allunyan de les seves posicions inicials en menor o major grau segons les forces que els dominen. Així doncs, el sistema és descrit com una entitat dinàmica en la que els àtoms modifiquen les seves posicions espacials en funció del

¹⁰³ Van Gusteren, W.F.; Berendsen, H.J.C., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1992**, 29, 992,.

temps, veient-se aquests influenciats per l'energia cinètica i per la resultant de les forces que actuen al seu voltant. Aquesta energia es distribueix en forma de velocitat entre tots els àtoms de forma uniforme. Es reparteix mitjançant una distribució Gaussiana aleatòria de manera que l'energia total es distribueix igualment al llarg dels tres eixos cartesianes.

Per exemple, en un ciclobutè com el de la **Figura 81**, s'escalfa el sistema i l'energia es reparteix aleatòriament primer; s'aplica a allargar el doble enllaç i una mica menys el simple (1). Al cap d'un interval de temps t aquesta deformació dóna lloc a l'estructura 2. En aquest punt es calcula l'energia estàtica del sistema (és a dir, la distorsió respecte la posició d'equilibri) i s'obtenen els vectors que intenten recuperar la posició inicial (3). La recuperació del doble enllaç presenta uns vectors de major magnitud degut a que està més lluny de la posició d'equilibri i la seva molla és més forta (constant d'enllaç major) que el simple enllaç. Així en aquest segon moment l'energia ja no es reparteix aleatòriament sinó en funció del camp de forces que regeix el sistema. En un altre interval de temps aquest moviment proporciona l'estructura 4. Es calcula el seu gradient de forces i s'obté la següent distribució de l'energia (5), que desemboca en l'estructura 6, i així contínuament.

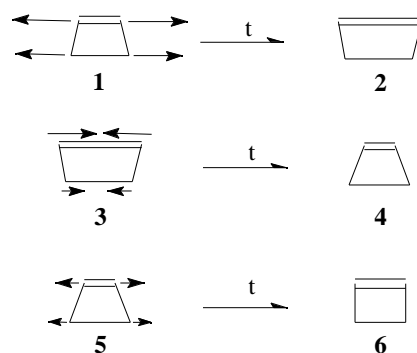


Figura 81 Exemple de dinàmica molecular: moviments del ciclobutè.

Així s'obté un ciclobutè que va variant la seva estructura contínuament. Finalment s'arriba a una situació d'equilibri on l'estructura fluctua al voltant d'una posició preferent. Això és el que fan les molècules en realitat; si la barrera es prou baixa vibren, varien els angles o canvien de conformació. Aquest és un exemple molt simple, s'ha de tenir en compte que en una dinàmica molecular varien tots els paràmetres possibles (longituds d'enllaç, angles, angles dihedres, distàncies intra- i intermoleculars). Per tal de poder tenir en compte totes les interaccions entre àtoms, l'increment de temps aplicat t ha de ser entre 10 i 20 vegades inferior a les freqüències de vibració més elevades (3000 cm^{-1} en el cas $\text{Csp}^3\text{-H}$), així doncs s'utilitza un increment de 1,5 femtosegons. Si no volem gastar tant temps CPU podem utilitzar un increment de temps més gran, això ens ho permet fer la metodologia SHAKE^{104,105}, la qual consisteix a restringir graus de llibertat d'un sistema, generalment la distància dels enllaços C-H de manera que podem incrementar l'interval de temps.

¹⁰⁴ Ryckaert, J.P.; Ciccoti, G.; Berendsen, H.J.C, *J. Comp. Phys.*, **1997**, 23, 327.

¹⁰⁵ Ryckaert, J.P., *Mol. Phys.*, **1985**, 55, 549.

14 AMBER

El seu acrònim prové de *Assisted Model Building with Energy Refinement*¹⁰⁶, és un programa que originalment fou creat per a simulacions de dinàmica molecular de proteïnes i àcids nucleics¹⁰⁷. Realment és un paquet que engloba diferents programes, desglossats tot seguit, i diversos camps de forces (OPLS, all_nuc94, all_amino, parm94, parm96 i parm98). Els camps de forces d'AMBER són també utilitzats en altres programes computacionals, així com els programes AMBER també poden treballar amb altres camps de forces.

Per aquest treball s'ha utilitzat sempre el camp de forces parm94¹⁰⁸ amb les versions d'AMBER v5¹⁰⁹ i v6¹¹⁰.

El grup creador d'AMBER té una plana web molt completa i interessant d'on es pot extreure molta informació útil: <http://www.amber.ucsf.edu/amber.html>.

¹⁰⁶ Weiner, P.K.; Kollman, P.A., *J. Comp. Chem.*, **1981**, 2, 287.

¹⁰⁷ Wipff, G.; Weiner, P.K.; Kollman, P.A., *J. Am. Chem. Soc.*, **1982**, 104, 3249.

¹⁰⁸ Cornell, W.D.; Cieplack, P.; Bayly, C.I.; Gould, I.R.; Merz, K.M. Jr; Ferguson, D.M.; Spellmeyer, D.C.; Fox, T.; Caldwell, J.W.; Kollman, P.A. *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, 268, 1144.

¹⁰⁹ Case, D.A.; Pearlman, D.A.; Caldwell, J.W.; Cheatham III, T.E.; Ross, W.S.; Simmerling, C.L.; Darden, T.A.; Merz, K.M.; Stanton, R.V.; Cheng, A.L.; Vincent, J.J.; Crowley, M.; Ferguson, D.M.; Radmer, R.J.; Seibel, G.L.; Singh, U.C.; Weiner, P.K.; Kollman, P.A., **1997**, AMBER 5, University of California, San Francisco.

¹¹⁰ Case, D.A.; Pearlman, D.A.; Caldwell, J.W.; Cheatham III, T.E.; Ross, W.S.; Simmerling, C.L.; Darden, T.A.; Merz, K.M.; Stanton, R.V.; Cheng, A.L.; Vincent, J.J.; Crowley, M.; Tsui, V.; Radmer, R.J.; Duan, Y.; Pitera, J.; Massova, I.; Seibel, G.L.; Singh, U.C.; Weiner, P.K.; Kollman, P.A., **1999**, AMBER 6, University of California, San Francisco.

L'esquema general dels programes que engloba AMBER és descrit tot seguit, Figura 82:

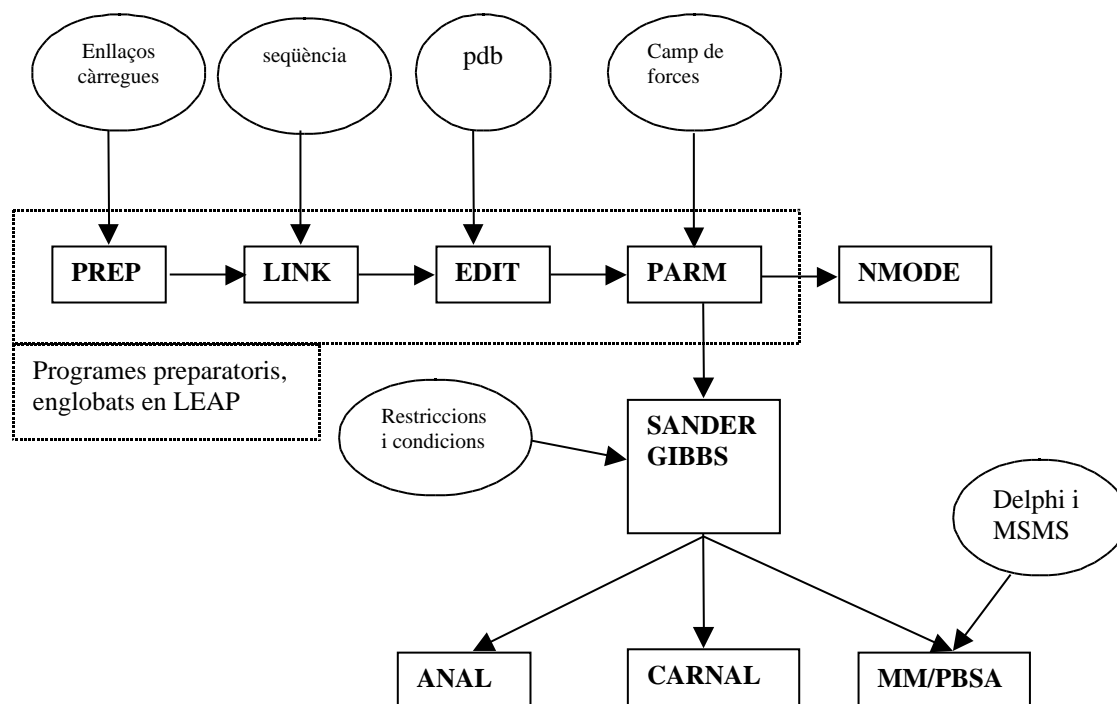


Figura 82 Esquema general de AMBER

Els programes enquadrats en la línia de punts són els preparatoris per tal de construir la molècula o sistema a estudiar.

14.1 PROGRAMES PREPARATORIS

PREP: És el programa utilitzat per a crear nous residus. Un residu és la unitat molecular bàsica utilitzada per AMBER, normalment és un aminoàcid o un àcid nucleic (residus ja existents en el programa i que per tant no cal crear) però pot ser qualsevol altra molècula petita o tros de molècula o un ió. En el nostre cas, per exemple, les ciclodextrines són creades a partir de residus de glucosa. Els residus es defineixen en

una estructura d'arbre, classificant cada àtom en 5 tipus topològics; la branca principal la formen els M (*Main*), els E (*End*) són el final d'una branca (com els hidrògens), els S (*Side*) són els que tenen un total de dues connexions amb altres àtoms, els B (*Branch*) tres connexions, els '3' tenen quatre connexions, i així fins els tipus '4', '5' i '6'. Per descriure els sistemes cíclics és fa igual però el tancament del cycle s'especifica amb el comandament LOOP, els tancaments de cycles no són considerants com a connexions a l'hora d'assignar els tipus topològics. Precedint als àtoms del residu, es necessita definir també tres àtoms fantasmes per tal de definir els eixos espacials del residu. Com a exemple, el residu de glucosa utilitzat per a formar les ciclodextrines quedaria definit de la següent manera:

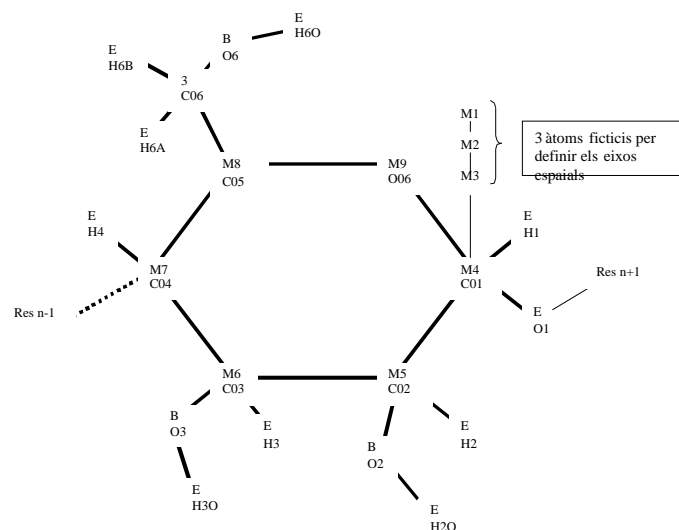


Figura 83 Esquema de construcció d'una glucosa per PREP. S'indica la topologia de cada àtom i el seu nom a sota. El cycle es tanca amb un LOOP entre el O06 i el C01.

LINK: És el programa que treballa amb la topologia de la molècula, se li especifica la seqüència dels residus (inclòs si només és un sol residu) que conformen la molècula a estudiar. Per exemple, per a formar la α -ciclodextrina, en aquest programa li

especificarem els residus que la formen (7 residus de glucosa que haurem creat amb el PREP) i com estan units (per l'oxigen glucosídic i formant un cicle).

EDIT: És el programa que assigna les coordenades atòmiques al sistema. Fins ara hem construït l'esquelet de la molècula però no li hem donat forma, en EDIT es llegeixen les coordenades atòmiques d'un fitxer PDB (a partir de dades cristal·lines o creat per altres mètodes) i s'apliquen a la topologia creada. En aquest mòdul també s'especifica si es vol solvatar la molècula (creant molècules d'aigua al seu voltant) o afegir contraions.

PARM: És el programa encarregat d'assignar els paràmetres (distàncies, angles, diedres i tipus d'àtom) a la molècula a estudiar. Escriu els fitxers de coordenades i topologia que són necessaris pels altres programes. També s'hi especifica els paràmetres i àtoms finals i de partida en el cas que es vulgui fer una pertorbació d'energia lliure (GIBBS).

14.2 OBTENCIÓ DE CÀRREGUES ATÒMIQUES RESP

La filosofia de la metodologia AMBER es basa en què l'acurada representació de les interaccions electrostàtiques és crucial per a representar i simular a les biomolècules. La metodologia *Restrained ElectroStatic Potential fit*^{111,112} (**RESP**) s'utilitza per calcular les càrregues atòmiques de la molècula a estudiar i que seran introduïdes en el mòdul PREP. S'encarrega d'ajustar el potencial electrostàtic (ESP) obtingut per mètodes de mecànica quàntica (HF/6-31G*) a la superfície molecular mitjançant un

¹¹¹ Bayly, C.I.; Cieplak, P.; Cornell, W.D.; Kollman P.A. *J. Phys. Chem.*, **1993**, *97*, 10269.

¹¹² Cornell, W.D.; Cieplak, P.; Bayly, C.I.; Kollman P.A. *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, *115*, 9620.

model de càrregues centrades en els àtoms. S'utilitzen diferents conformacions de la molècula en el càlcul i així les càrregues resulten independents de la conformació.

Primerament s'optimitza la geometria de la molècula amb una base simple, STO-3G, i seguidament es determina el potencial electrostàtic per HF/6-31G* amb les comandes pop=mk (mètode Merz-Kollman¹¹³) iop(6/33)=2. Els càlculs *ab initio* els hem realitzat amb el programa Gaussian 94¹¹⁴.

Un cop obtingut el potencial electrostàtic (per a cada conformació emprada), es determinen les càrregues en dues etapes. A la primera etapa s'avaluen les càrregues per a tots els àtoms i a la segona es mantenen fixes les dels àtoms més interns (o pesats) i s'afinen les dels àtoms externs (especialment els hidrògens). En totes dues etapes es poden aplicar restriccions de simetria que poden ser dins la mateixa molècula (que els tres hidrògens d'un grup metil tinguin la mateixa càrrega) o entre les diferents conformacions (que els àtoms equivalents entre conformacions tinguin la mateixa càrrega final). També s'indica la càrrega total de la molècula (zero per les molècules neutres) o es pot obligar a un grup d'àtoms a tenir una càrrega total determinada, com per exemple en el cas de les càrregues per a la ciclodextrina (veure apèndix) s'indica que el residu central (entre parèntesi) té càrrega total nul·la, a fi i efecte que en ajuntar residus de glucosa per formar ciclodextrines s'obtingui una molècula neutra.

¹¹³ Besler, B.H.; Merz, K.M.; Kollman, P.A., *J. Comp. Chem.*, **1990**, *11*, 431.

14.3 PROGRAMES ENERGÈTICS

SANDER: És el programa general de minimització energètica i dinàmica molecular. S'hi poden especificar una gran varietat de comandes (*keywords*) depenent de la simulació que es vulgui realitzar. En la dinàmica molecular es guarden les configuracions a intervals regulars per tal de ser analitzades després, en la minimització són guardades les coordenades finals.

Com a exemple es mostren els fitxers de comandes per a la minimització (*minw.in*), les etapes d'escalfament de la dinàmica molecular (*md1w.in* i *md2w.in*) i l'etapa productiva de la dinàmica (*md3w.in*) en solució aquosa (a la pàgina següent).

És important destacar les comandes *cut* i *cut2nd* que fan referència al *cutoff* primari i secundari. El *cutoff* és un radi de tall que apliquem per tal de no tenir que calcular totes les interaccions no-enllaçants (electrostàtiques i van der Waals). Amb els que s'apliquen en l'exemple (*cutoff* primari de 8 i secundari de 12) significa que totes les interaccions no-enllaçants entre els àtoms a distància menor de 8 Å (interaccions a curta distància) són calculades a cada pas de dinàmica molecular, les interaccions entre els àtoms situats entre 8 i 13 Å (interaccions a llarga distància) només són calculades cada NSNB passos de dinàmica molecular (cada 100 passos en l'exemple). Les interaccions no-enllaçants entre àtoms separats per més de 13 Å de distància no són

¹¹⁴ Frisch, M.J.; Trucks, G.W.; Schlegel, H.B.; Gill, P.M.W.; Johnson, B.G.; Robb, M.A.; Cheeseman, J.R.; Keith, T.A.; Petersson, G.A.; Montgomery, J.A.; Raghavachari, K.; Al-laham, M.A.; Zakrzewski, V.G.; Ortiz, J.V.; Foresman, J.B.; Ciosowski, J.; Stefanov, B.B.; Nanayakkara, A.; Challacombe, M.; Peng, C.Y.; Ayala, P.Y.; Chen, W.; Wong, M.W.; Andres, J.L.; Replogle, E.S.; Gomperts, R.; Martin, R.L.; Fox, D.J.; Binkley, J.S.; Defrees, D.J.; Baker, J.; Steward, J.P.; Head-Gordon, M.; Gonzales, P.; Pople, J.A., Gaussian 94, **1995**, Gaussian, Inc., Pittsburg PA.

considerades. Aquest sistema de cutoffs ens rebaixa el temps de càlcul i considera només les interaccions no-enllaçants més importants.

minw.in

```
#minimització en fase aquosa
&cntrl
  maxcyc=5000, imin=1, irect=0, nstlim=5000,
  cut=8.0, nsnb=25, ntp=100,
  ntt=1, npscal=1, idiel=1, ntb=2, ntwx=25, ntwe=100,
  ntx=1, init=3, ntc=1, ntf=1, iftres=1, ntp=1,
  cut2nd=12., scee=1.2 , ncyc=5000
&end
```

md1w.in

```
# escalfament de 0->50 K en 1ps
&cntrl
  maxcyc=500, imin=0, irect=0, nstlim=1000,
  cut=8.0, nsnb=100, ntp=200, tempi=0.0, temp0=50.0,
  ntt=5, npscal=1, idiel=1, ntb=2, ntwx=200, ntwe=200,
  ntx=1, init=3, ntc=2, ntf=2,
  cut2nd=12., scee=1.2 , ncyc=50, ntp=1,
&end
```

md2w.in

```
#escalfament de 50->298 K en 50ps
&cntrl
  maxcyc=500, imin=0, irect=1, nstlim=50000,
  cut=8.0, nsnb=100, ntp=1000, tempi=50.0, temp0=298.0,
  ntt=5, npscal=1, idiel=1, ntb=2, ntwx=5000, ntwe=5000,
  ntx=7, init=4, ntc=2, ntf=2,
  cut2nd=12., scee=1.2, ncyc=50, ntp=1,
&end
```

md3w.in

```
#dinàmica productiva a 298 K durant 500ps
&cntrl
  maxcyc=500, imin=0, irect=1, nstlim=500000,
  cut=8.0, nsnb=100, ntp=1000, tempi=50.0, temp0=298.0,
  ntt=5, npscal=1, idiel=1, ntb=2, ntwx=1000, ntwe=1000,
  ntx=7, init=4, ntc=2, ntf=2,
  cut2nd=12., scee=1.2, ncyc=50, ntp=1,
&end
```

GIBBS: És el programa que realitza les pertorbacions d'energia lliure. És similar al SANDER, però per calcular la diferència d'energia lliure entre dos estats similars (definitos en PARM) utilitza l'ensamblatge de configuracions generades. Es muta una molècula en una altra en petits passos que venen determinats pel paràmetre d'acoblament λ . Per exemple, en la Figura 84, es representa una mutació que consisteix en canviar un ester per una amida; es parteix a $\lambda=0$ amb l'ester (el DU és un àtom fictici), al següent pas el oxigen comença a transformar-se en nitrogen i l'àtom fantasma en un hidrogen i així seguidament fins a obtenir la molècula d'amida.

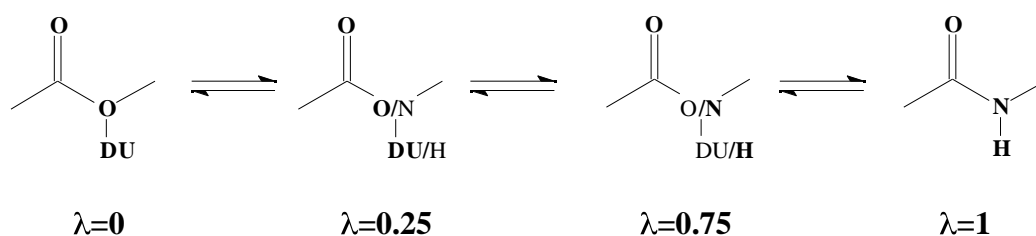


Figura 84 Exemple de mutació, en passos successius, d'una molècula a un altra.

A cada valor de λ es realitza una dinàmica molecular (equilibració i enregistrament) i el pas d'una lambda a una altra es fa en les dues direccions i es promitja la diferència (a $\lambda=0$ es fa una DM, es canvia a $\lambda=0.25$ i es fa DM, es torna a $\lambda=0$ i es torna a fer DM; el canvi d'energia de passar de $\lambda=0$ a 0.25 es promitja de l'observat en cada una de les direccions), d'aquesta manera s'obté una pertorbació correcta on els valors d'anada i tornada no difereixen gaire (histèresi petita).

En cada variació de lambda cada un dels termes del camp de forces (càrrega, van der Waals, enllaç, angle i diedre) és representat com a combinació lineal dels valors corresponents a l'estat inicial i final, per exemple, la constant de força d'un enllaç variaria d'aquesta manera: $k_l(\lambda) = k_l(\text{estat final}) + (1-\lambda) k_l(\text{estat inicial})$.

Com a exemple aquest seria el fitxer de comandes per a la FEP de 20 ns:

```
# Pertorbació FEP en solució: 20 ns en total
# 201 finestres amb dinàmiques de 20 ps equilibri i 80 ps d'enregistrament a cada una.
&cntrl
  ntx=7, ntb=2, nrun=201, ntt=5, temp0=298.,
  nstlim=100000, init=4, t=0.0,
  dt=0.001, ntc=2, ishkfl=1, ntf=2, nsnb=100,
  idiel=1, cut=8.0, scee=1.2, ntp=2500, ntwv=2500, ntwe=2500,
  almda=1.0, almdel=0.005, isldyn=-3, intprt=5,
  cut2nd=13., nstmeq=20000, nstmul=80000, npscal=1, ntp=1,
&end
```

NMODE: És un programa que ens permet realitzar un anàlisi vibracional i minimitzar l'energia mitjançant les segones derivades. Com a minimitzador permet obtenir gradients energètics molt baixos, i també permet obtenir els modes normals d'un sistema. S'ha utilitzat en aquest treball per tal de calcular l'entropia. Per tal de calcular l'entropia primerament s'eliminen les molècules d'aigua del sistema i s'optimitza la molècula amb SANDER fins a gran convergència, aleshores es torna a optimitzar amb NMODE amb una constant dielèctrica de $4r_{ij}$ (on r_{ij} és la distància entre els àtoms i i j) i finalment es calcula l'entropia. El valor d'entropia per a un sistema normalment es dona com el promig dels valors obtinguts d'unes 6 estructures, car els càlculs són bastant costosos per aplicar-ho a totes les estructures d'una dinàmica.

Com a exemple dels tres fitxers de comandes necessaris:

```
#minimització alta convergència amb SANDER
&cntrl
  maxcyc=5000, ntmin=0, drms=1.0E-5, idiel=0, dielc=4, scee=1.2, cut=13.0,
  imin=1
&end

# minimització alta convergència amb NMODE
&data
  ntrun=4, maxcyc=1000, cut=13.0, idiel=0, dielc=4, scee=1.2, drms=1.e-5
&end

# càlcul dels modes normals de vibració (per trobar l'entropia) amb NMODE
&data
  ntrun=1, cut=13.0, idiel=0, dielc=4, scee=1.2, drms=7e-5
&end
```

14.4 EFECTE DEL SOLVENT

La metodologia AMBER ens permet utilitzar un model de solvatació explícita, és a dir, crear una caixa (tridimensional) de molècules de solvent (aigua en el nostre cas) al voltant del nostre sistema. Aquestes molècules també es van movent durant la dinàmica molecular. S'ha utilitzat un model TIP3P¹¹⁵ d'aigua i condicions periòdiques de contorn, és a dir que al voltant del nostre sistema es creen caixes imatges traslladant les coordenades de la central, com es mostra a la Figura 85.

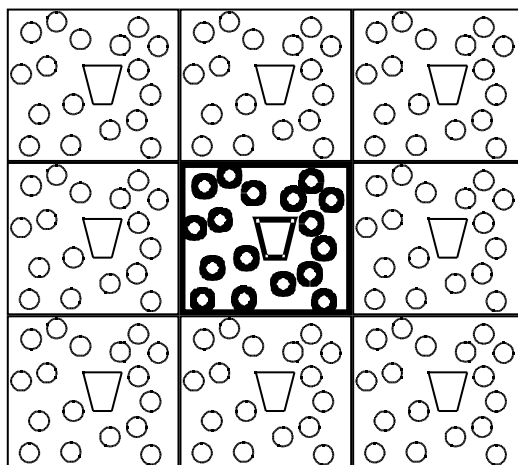


Figura 85 Condicions periòdiques de contorn, cas bidimensional.

El model d'aigua TIP3P es basa en un cos rígid de tres punts d'interacció electrostàtica (l'oxigen amb càrrega negativa i els hidrògens amb càrrega positiva per contrarestar) i un sol punt d'interacció van der Waals (centrat a l'àtom d'oxigen, els hidrògens no es compten), els valors es presenten a la Taula 42. Aquest és el model que em utilitzat en aquest treball, però existeixen altres models simples (amb cos rígid i utilitzant de tres a cinc punts d'interacció) i també models polaritzables.

¹¹⁵ Jorgensen, W.L.; Chandrasekhar, J.; Madura, J.D.; Impey, R.W.; Klein, M.L. *J. Chem. Phys.*, **1983**, 79, 926.

| Model aigua TIP3P | van der Waals | | Electrostàtic |
|-------------------|---------------|------------|-----------------|
| | R*(Å) | (kcal/mol) | Càrrega atòmica |
| OW | 1.768 | 0.152 | -0.834 |
| HW | 0.000 | 0.000 | 0.417 |

Taula 42 Paràmetres del model explícit d'aigua TIP3P. OW i HW són l'àtom d'oxigen i el d'hidrogen.

14.5 PROGRAMES D'ANÀLISI

ANAL: Ens permet analitzar l'estructura i sobretot l'energia d'una configuració del sistema. És un bon sistema per detectar errors (que deuenen en energies grans) en les estructures inicials del sistema estudiat. També poden ser utilitzats per a anàlisis més sofisticats de l'energia i estructura ja que es poden definir diversos grups en el sistema i analitzar-los separatament, podent així observar la seva contribució a l'energia global.

CARNAL: És el programa utilitzat per analitzar les dinàmiques moleculars. Permet analitzar mesures geomètriques, diferències de les coordenades per mínims quadrats (*Root Mean Square fitting*), obtenir una mitjana de les trajectòries (*average*) i molts altres anàlisis estructurals.

14.6 CÀLCUL DE L'ENERGIA D'INTERACCIÓ: METODOLOGIA MM/PBSA

La metodologia MM/PBSA¹¹⁶ ens permet avaluar l'energia lliure d'interacció (no covalent) o calcular les energies lliures absolutes d'interacció de molècules tipus *guest/host* o lligand/receptor en solució. Utilitza les estructures obtingudes en una simulació de dinàmica molecular per a analitzar-les combinant les energies de mecànica molecular amb un model de solvatació continu. D'una simulació de dinàmica molecular amb aigua explícita se n'extreuen les estructures del complex generades al llarg del temps (eliminant les molècules d'aigua) i s'avalua l'energia d'aquestes. La manera més comuna d'utilitzar el MM/PBSA és amb les estructures del complex, *guest* i *host* extretes del mateix fitxer de trajectòries de DM, però si hi ha canvis importants entre les espècies lliures i complexades les estructures de cada espècie provenen de DM independents.

L'energia lliure d'interacció d'un complex és calculada com:

$$G_{\text{binding}} = G_{\text{water}}(\text{complex}) - [G_{\text{water}}(\text{guest}) + G_{\text{water}}(\text{host})]$$

On cada component G_{water} és dividit en tres termes:

$$G_{\text{water}} = E_{\text{gas}} + G_{\text{solvation}} - TS$$

El terme entròpic, $-TS$, s'avalua amb el programa NMODE. E_{gas} fa referència a l'energia (de mecànica molecular) de la molècula sense tenir en compte l'efecte del solvent, és calcula mitjançant el programa ANAL.

$$E_{\text{gas}} = E_{\text{internal}} (\text{enllaç, angle, torsió}) + E_{\text{electrostatic}} + E_{\text{vdW}}$$

¹¹⁶ Srinivasan, J.; Cheatham, T.E.; Cieplak, P.; Kollman, P.A.; Case, D.A. *J. Am. Chem. Soc.*, **1998**, *120*, 9401.

L'efecte del solvent es divideix en un terme polar (G_{PB}) tipus Poisson-Boltzmann, avaluat amb el programa Delphi^{117,118}, i en un terme no-polar que depèn de superfície de la molècula accessible al solvent, estimat amb el programa MSMS^{119,120}. El solvent es tracta com un continu, de manera similar a l'explicat en el capítol 12.1.4 sobre l'efecte del solvent.

$$G_{solvation} = G_{PB} + G_{nonpolar}$$

La metodologia MM/PBSA ha estat desenvolupada recentment, en la versió 5 d'AMBER no hi era però hom es podia descarregar els programes necessaris i utilitzar-la. Tot i ser una metodologia molt simple ha resultat bastant útil i és molt utilitzada, sobretot per avaluar les energies d'interacció entre enzims i proteïnes, prova d'això és que en la nova versió d'AMBER aquesta metodologia ja s'hi troba implementada.

¹¹⁷ Honig, B.; Nichols, A., *Science*, **1995**, 268, 1144.

¹¹⁸ <http://honiglab.cpmc.columbia.edu/> per a més informació i descarregar-lo.

¹¹⁹ Sanner, M.F.; Olson, A.J.; Spehner, J.C., *Biopolymers*, **1996**, 38, 305.

¹²⁰ <http://www.scripps.edu/pub/olson-web/people/sanner/home.html> per a més informació i descarregar-lo.

L'aproximació MM/PBSA ens permet avaluar i comparar les constants de complexació de diferents complexos. És una aproximació molt útil però hem de ser conscients de les seves falles, com és la introducció del solvent continu, i la separació extremada de l'energia entre l'energia en fase gas i l'efecte de la solvatació. Aquests dos termes no són independents, ni molt menys, i necessitaríem termes creuats per a representar-ho millor, seguint la mateixa lògica que la introducció de perturbacions en mecànica quàntica.

APÈNDIX

15 CLÚSTER TIOUREA/CLOROCICLOHEXÀ

15.1 PARAMETRITZACIÓ DE LA TIOUREA PER MM3

El programa MM3 no disposa de determinats paràmetres per a alguns àtoms o agrupacions d'àtoms de la tiourea, i aquests són necessaris per a realitzar-ne la minimització. El problema que s'ha de solventar és, doncs, la parametrització. La tiourea és molt similar a la urea i aquesta sí que està parametritzada, per tant, es poden obtenir els paràmetres a partir d'aquests. Per tal d'avaluar millor les similituds i diferències entre aquestes molècules s'han realitzat càlculs semiempírics AM1¹²¹ que, entre altres dades, ens proporcionen les càrregues atòmiques. Els paràmetres deduïts són:

- Paràmetre de torsió del diedre S=C-N-H: Tant la urea com la tiourea tenen tots els àtoms en el mateix pla, aquest paràmetre és el que ho determina, per tant s'assignen a la tiourea els mateixos valors que els parametritzats per la urea ($V_1=1.0$, $V_2=4.10$, $V_3=0.0$).
- Angle diedre impropi C=S: És el valor que manté els nitrògens al pla, se li assignen els mateixos valors que en la urea ($k_\xi=0.65$, $\xi_0=0.0$).
- Enllaç C=S: L'enllaç és més feble i més llarg en la tiourea que en la urea. Això s'explica amb el càlcul AM1. Per tant s'afebleixen els valors de la urea ($k=8.3$, $l_0=1.2280$) i s'obtenen els de la tiourea ($k_s=7.0$, $l_0=1.686$). La distància òptima l_0 és l'observada en les dades de l'estructura cristal·lina.

¹²¹ Dewar, M.J.S.; Zoebisch, E.G.; Healy, E.F.; Stewart, J.J.P., *J. Am. Chem. Soc.*, **1985**, *107*, 3902.

- Dipol C=S : Per tal de reproduir el moment dipolar de la molècula de tiourea (5.625 D, resultant del càlcul AM1), s'ha d'assignar un moment dipolar de **2.300 D** a l'enllaç C-S, major que el del C-O en urea (1.860 D), encara que això vagi en contra de la lògica química ja que l'enllaç C=S en la tiourea ha d'estar menys polaritzat que el C=O en la urea, però s'ha de reproduir el moment dipolar experimental i aquest és l'únic valor que no està parametritzat, per tant, l'únic que es pot canviar.

- Angle N-C=S : La tiourea presenta un angle major que la urea; per tant, partint dels valors de la urea ($k=1.07$, $\alpha=124.8$) se li assigna a la tiourea un angle més obert (el de les dades cristal·lines) i una constant de *bending* més forta per a que el mantingui. Així s'obtenen els paràmetres **$k_b=1.17$, $\theta=132.0$** .

Amb tots aquests paràmetres, es pot simular correctament una sola molècula de tiourea i optimitzar-la amb MM3. S'obté la mateixa geometria que l'observada en les dades cristal·lines de la tiourea. Per poder simular l'estructura del canal de tiourea complet falta parametritzar l'enllaç d'hidrogen entre S i HN.

- Enllaç d'hidrogen -C=S...H-N- intermolecular: aquest paràmetre és molt important ja que l'estructura es manté gràcies als enllaços d'hidrogen. Per a la urea existeixen paràmetres per l'enllaç amb valors de $k=5.100$ i $R=2.030 \text{ \AA}$. Segons el càlcul AM1, els hidrògens de la urea i la tiourea tenen una densitat de càrrega positiva molt similar, però l'oxigen en la urea té una densitat de -0.4191, mentre que en el S és de -0.3328, més petita degut a la menor electronegativitat del sofre. El paràmetre k mesura la força de l'enllaç d'hidrogen, donat que en la urea els àtoms que formen l'enllaç d'hidrogen tenen major densitat de càrrega que en la tiourea, aquesta última formarà un enllaç de menor energia. Així doncs, partint dels paràmetres de la urea s'assigna a la tiourea un k més petit, segons la relació de càrregues ($\epsilon_{HB}=4.100$) i una distància

d'enllaç d'hidrogen més llarga i adient per a l'estructura cristal·lina estudiada ($R = 2.420 \text{ \AA}$).

Es minimitza el canal de tiourea per MM3 amb tots aquests paràmetres. L'estructura resultant és completament superposable amb la derivada de les dades cristal·lines, a la Taula 43 es mostren alguns valors de distància i angles de les dues estructures. Es realitza una primera simulació d'inclusió del clorociclohexà en el canal i s'observa com el canal manté bastant bé la seva estructura durant la pujada, així doncs no és necessari imposar restriccions a aquesta.

| Dades característiques de l'estructura de tiourea | Estructura Cristal·lina | Aquest estudi (MM3) |
|---|-------------------------|---------------------|
| Distància C=S | 1.684 | 1.685 |
| Distància C=N | 1.424 | 1.389 |
| Distància N-H | 1.011 | 1.036 |
| Distància enllaç d'hidrogen | 2.37-2.38 | 2.3-2.4 |
| Angle S=C-N | 125.3 | 125.1 |
| Angle C-N-H | 118.5 | 118.4 |
| Angle H-N-H | 120.7 | 120.1 |
| Diedre S=C-N-H | 0.0 | 0.1 |

Taula 43 Comparació de dades geomètriques de l'estructura de tiourea extreta de les dades cristal·lines i l'obtinguda amb el camp de forces MM3 parametrizat.

15.2 METODOLOGIA MECÀNICA MOLECULAR

Per orientar la tiourea es situen els àtoms de sofre de les tres molècules de tiourea de la meitat del canal en $Z = 0$ de manera que quedin definint el pla XY, llavors l'eix Z passa al llarg del centre del canal **Figura 86**. Així doncs, per realitzar la simulació de la inclusió només cal situar el *guest* en la posició $Z = -20 \text{ \AA}$ i fer-lo pujar per l'eix Z, igual que s'ha realitzat amb els complexos de α -ciclodextrina.

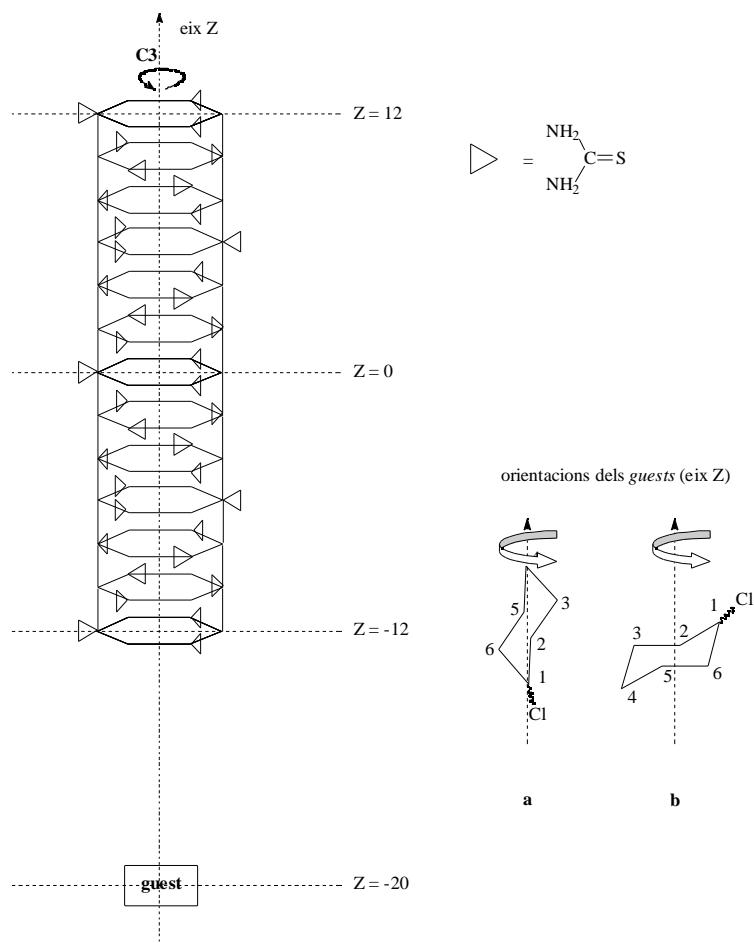


Figura 86 Representació esquemàtica de les orientacions utilitzades pel canal de tiourea i pel clorociclohexà.

S'ha dut a terme la inclusió amb el clorociclohexà com a *guest*. D'aquest s'han estudiat les dues conformacions cadira; amb el clor en posició axial i equatorial. S'han considerat dues orientacions, **a** i **b**, de partida amb rotacions sobre l'eix Z de 0 a 120 graus (de 10 en 10), no cal fer els 360 degut a la simetria del canal.

15.3 PARAMETRITZACIÓ DE LA TIOUREA PER DINÀMICA MOLECULAR

S'utilitza el camp de forces MM3*, degut a que ja s'ha parametritzat l'estructura de tiourea per MM3 i es podran transferir paràmetres.

Els camps de forces implementats en el MacroModel tenen paràmetres generalitzats, és a dir que si no hi ha paràmetres específics per certs àtoms o enllaços se'ls associa un valor general, de manera que el càlcul es porta a terme amb aquests, sense demanar els paràmetres que li fan falta (com feia el MM3). Així doncs utilitzant tant el MM3* com AMBER*, s'aconsegueix minimitzar l'estructura de tiourea, però el resultat (**Figura 87**) no té res a veure amb l'estructura cristal·lina que s'intenta simular. Per tant s'ha d'anar molt amb compte amb aquests paràmetres generalitzats, i addicionar-ne de nous adients per la tiourea.

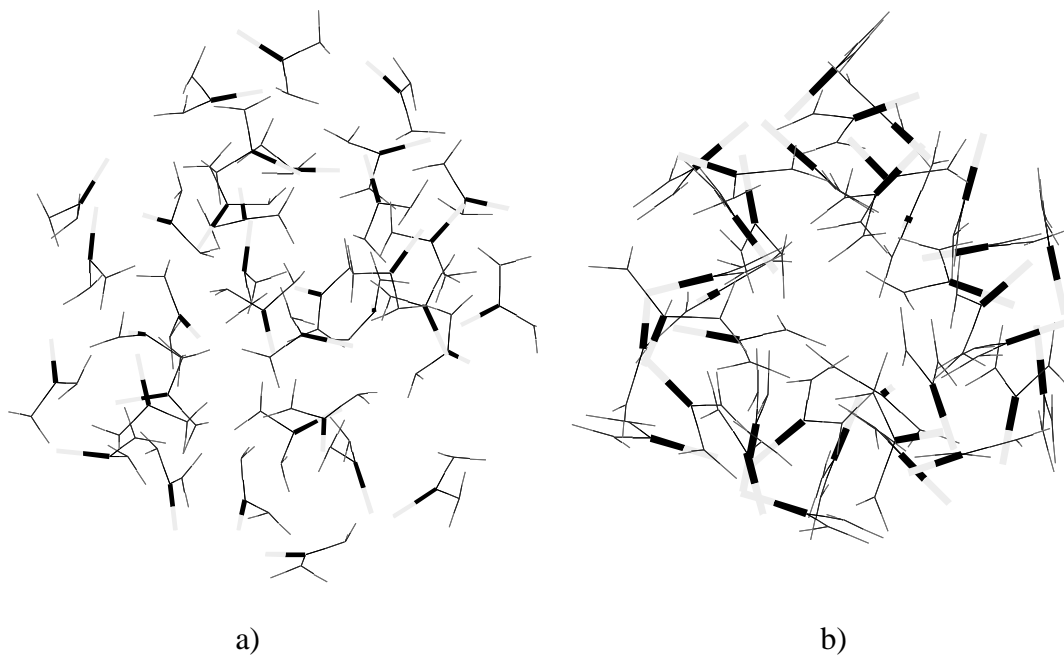


Figura 87 Estructures pel canal de tiourea obtingudes amb els camps de forces sense parametritzar. a) MM3* b) AMBER*.

El programa MM3* té paràmetres especials per a amides i urea, per tant, variant aquests es trobaran els de la tiourea. El problema inicial és la poca transferabilitat entre

els paràmetres trobats per MM3 al nou camp de forces MM3*. Els corresponents als termes de *stretching* i *bending* són els mateixos en els dos *force fields*, però els altres són avaluats de forma diferent. Hi ha paràmetres amb el mateix nom (V_1 , V_2 , V_3 de torsió per exemple) però no tenen el mateix valor que en l'altre camp de forces, degut a que s'utilitzen altres funcions. Els paràmetres trobats per a la tiourea són finalment:

Stretching: S = C ($l_0 = 1.6860$, $k_s = 7.0000$, $\mu = -2.3000$)

N - H ($l_0 = 1.0280$, $k_s = 6.7700$, $\mu = -1.5800$) per a urea i tiourea.

Bending: C - N - H ($\theta_0 = 118.5000$, $k_b = 0.5800$, $k_{sb} = 0.3000$) per a urea i tiourea.

N - C = S ($\theta_0 = 132.0000$, $k_b = 1.1700$, $k_{sb} = 0.2400$) per a tiourea.

N - C - N ($\theta_0 = 120.0000$, $k_b = 0.5000$, $k_{sb} = 0.2400$) per a urea i tiourea.

Torsion: N - C - N - H ($V_1 = 0.0000$, $V_2 = 1.0000$, $V_3 = 0.0000$) per a urea i tiourea.

S = C - N - H ($V_1 = 1.0000$, $V_2 = 4.1000$, $V_3 = 0.0000$) per a tiourea, els mateixos que per a la urea.

Angle diedre impropia: C = S ($\theta_0 = 0.0000$, $k = 0.8000$) per a urea i tiourea.

Interaccions de van der Waals especials: S...H ($R = 2.4200$, $E_{ps} = 0.8000$) especial per a tiourea per avaluar l'enllaç d'hidrogen. L'enllaç d'hidrogen s'ha introduït en aquest terme degut a que els paràmetres i funcions que necessita són semblants als de MM3, encara que E_{ps} no s'avaluï de la mateixa manera (valor molt diferent). En el camp de forces MM3* hi ha un altre terme específic per als enllaços d'hidrogen però s'avalua amb unes altres funcions i paràmetres, extrets del AMBER*, que no tenen res a veure amb els anteriors, a més els de la tiourea tampoc hi són parametrizats i serien més costosos d'obtenir.

Amb aquests nous valors dels paràmetres s'obté una estructura del canal de tiourea que reproduïx satisfactòriament les dades experimentals, com es mostra a la

Taula 44.

| Dades característiques de l'estructura de tiourea | Estructura Cristal·lina | Aquest estudi (MM3*) |
|---|-------------------------|----------------------|
| Distància C=S | 1.684 | 1.685 |
| Distància C=N | 1.424 | 1.389 |
| Distància N-H | 1.011 | 1.036 |
| Distància enllaç d'hidrogen | 2.37-2.38 | 2.3-2.4 |
| Angle S=C-N | 125.3 | 125.1 |
| Angle C-N-H | 118.5 | 118.4 |
| Angle H-N-H | 120.7 | 120.1 |
| Diedre S=C-N-H | 0.0 | 0.1-0.5 |

Taula 44 Comparació de dades geomètriques de l'estructura de tiourea extreta de les dades cristal·lines i l'obtinguda amb el camp de forces MM3* parametrizat.

15.4 METODOLOGIA DINÀMICA MOLECULAR

S'ha realitzat un procés de dinàmica molecular amb el canal de tiourea simulat, amb el camp de forces MM3*, però durant aquesta, l'estructura es desmunta i es perd la forma del canal.

En els estudis de mecànica molecular només s'ha minimitzat el canal sense aplicar-li restriccions de moviment (només les d'orientació) i aquest no es deforma durant la simulació de la inclusió. Això es deu a que l'estructura és un mínim energètic (per a això s'ha parametrizat) i la mecànica molecular s'ancora als mínims. En canvi, en la dinàmica molecular, al aplicar energia al sistema, aquest pot superar barreres energètiques i així trobar altres associacions de les molècules de tiourea que també corresponguin a mínims energètics, les quals no tenen res a veure amb l'estructura simulada. L'estratègia utilitzada ha estat fixar les coordenades de tots els àtoms de carboni del canal de tiourea simulat. D'aquesta manera el canal es conserva durant la dinàmica i les molècules de tiourea que el formen poden moure's lliurement. Impedint que els àtoms de carboni de la tiourea es desviïn de la seva posició inicial es simula

l'efecte que exerceix l'estructura tridimensional d'aquesta. La tiourea en el compost estudiat forma una xarxa cristal·lina tridimensional on cada canal és envoltat per altres paral·lels. Per a realitzar els càlculs només es simula un sol canal sense res més al voltant que li impedeixi el moviment. Fixant els carbonis es simula l'efecte de restricció del moviment que exerceixen les altres molècules que envolten el canal. Així doncs, la dinàmica molecular es duu a terme amb les següents condicions:

- Es fixen les posicions de tots els àtoms de carboni del canal de tiourea.
- No s'apliquen restriccions per fixar el *guest* (com ara fixar distàncies intermoleculars) ja que el canal és prou llarg per a que no surti d'aquest, a més l'anàlisi posterior de les dades demostra que el *guest* queda bastant fixat en certes posicions.
- S'han utilitzat 10 picosegons per cada etapa d'escalfament (5-50K, 50-150K i 150-298K), 50 ps per a l'equilibració a 298 K, i 500 picosegons en l'etapa d'enregistrament, de la qual s'han extret 1000 estructures (una cada 0,5 ps de dinàmica).

16 CANVIS CONFORMACIONALS I BARRERA DEL CICLOHEXANOL EN β -CICLODEXTRINA

16.1 METODOLOGIA DE MECÀNICA MOLECULAR

Els càlculs s'han realitzat amb el camp de forces MM3* de MacroModel5, sense presència de solvent. Per tal de determinar la barrera energètica s'ha realitzat un *driver*, és a dir la rotació de dos diedres del ciclohexanol per a què ens doni la superfície bidimensional d'energia potencial per a la transformació axial-equatorial. El fitxer de comandes es presenta tot seguit:

| | | | | | | | | | |
|------|---|---|------|---|----------|----------|----------|--|---|
| FFLD | 2 | 0 | 0 | 0 | 1.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | → camp de forces MM3* |
| EXNB | 0 | 0 | 0 | 0 | 15.0 | 15.0 | ----- | → Interaccions no-enllaçants calculades fins a 15 Å. | |
| READ | | | | | | | | | |
| BGIN | | | | | | | | | |
| DRIV | 3 | 4 | 5 | 6 | -80.0000 | 80.0000 | 10.0000 | 0.0000 | → rotar enllaç de -80 a 80 a intervals de 10. |
| DRIV | 3 | 2 | 1 | 6 | 80.0000 | -80.0000 | -10.0000 | 0.0000 | → rotar enllaç de -80 a 80 a intervals de 10. |
| MINI | 1 | 0 | 5000 | 0 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | → minimització |
| WRIT | | | | | | | | | |
| END | | | | | | | | | |

Es realitza un escombrat de -80 a 80 graus per cada diedre, a intervals de 10 graus. Es localitzen els punts estacionaris (mínims i estats de transició) i es reoptimitzen sense restriccions amb FMNR (*Full Matrix Newton-Ramson*). Dins la ciclodextrina es fa el mateix procediment.

16.2 METODOLOGIA DE DINÀMICA MOLECULAR

Per a la dinàmica molecular s'utilitza també el camp de forces MM3* sense la presència de solvent. Per a que el ciclohexà es mantingui en cada una de les conformacions estudiades s'han aplicat restriccions de moviment als dos diedres que defineixen l'estructura. En el cas del complex s'han aplicat també les mínimes restriccions de distància *guest-host* per a que el complex es mantingui durant tota la simulació.

S'utilitzen 10 picosegons per cada etapa d'escalfament (5-50, 50-150, 150-298 K), 100 ps per a l'equilibració a 298 K. L'etapa d'enregistrament és de 500 ps en el cas del ciclohexanol isolat (en totes les conformacions utilitzades) i en el complex amb la - ciclodextrina. En el complex s'han realitzat etapes d'enregistrament més llargues, de 2500 ps, per a la conformació axial i equatorial degut al canvi conformacional observat (més estable la conformació axial que l'equatorial); ens volíem assegurar que aquest canvi no era casual degut a un mostreig pobre.

| | | | | | | | | | | |
|------|-----|-----|------|-----|--------|----------|----------|--|---------------------------------|--|
| FFLD | 2 | 0 | 0 | 0 | 1.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | → camp de forces MM3* |
| EXNB | 0 | 0 | 0 | 0 | 15.0 | 15.0 | ----- | ----- | ----- | → Interaccions no-enllaçants calculades fins a 15 Å. |
| READ | | | | | | | | | | |
| FXTA | 150 | 149 | 148 | 153 | | 60.0 | 2.0 | → diedres fixats (llibertat de moure's ±2 graus) | | |
| FXTA | 150 | 151 | 152 | 153 | | 0.0 | 2.0 | → diedres fixats (llibertat de moure's ±2 graus) | | |
| FXDI | 151 | 9 | 0 | 0 | 100.0 | 3.641 | 2.0 | } → distàncies <i>guest-host</i> fixades per mantenir el complex (llibertat de moure's ±2 Å) | | |
| FXDI | 151 | 30 | 0 | 0 | 100.0 | 4.620 | 2.0 | | | |
| FXDI | 151 | 93 | 0 | 0 | 100.0 | 6.231 | 2.0 | | | |
| MINI | 1 | 1 | 5000 | | | | | | | |
| MDIT | 0 | 0 | 0 | 0 | 5.0 | | | | | |
| MDMT | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | | |
| MDYN | 1 | 2 | 0 | 0 | 0.5000 | 5.0000 | 50.0000 | → escalfament 5-50 k en 5 ps. | | |
| MDYN | 1 | 2 | 0 | 0 | 0.5000 | 5.0000 | 150.0000 | → escalfament 50-150 k en 5 ps. | | |
| MDYN | 1 | 2 | 0 | 0 | 0.5000 | 5.0000 | 298.0000 | → escalfament 150-298 k en 5 ps. | | |
| MDYN | 1 | 2 | 0 | 0 | 1.0000 | 50.0000 | 298.0000 | → equilibració a 298 k durant 50 ps. | | |
| MDVE | 0 | | | | | | | | | |
| MDSA | 500 | 0 | | | | | | | | |
| MDVE | 1 | | | | | | | | | |
| MDYN | 1 | 2 | 0 | 0 | 1.0000 | 500.0000 | 298.0000 | 0.2000 | → enregistrament durant 500 ps. | |
| MDVE | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | | |
| WRIT | | | | | | | | | | |

CAPÍTOLS REALITZATS AMB AMBER

Els dos primers capítols d'aquest treball han estat realitzats amb el programa MacroModel5 (i MM3) però la metodologia aplicada a cada cas és bastant diferent i per això s'han descrit, a l'apèndix, per separat.

En els capítols següents tots els càlculs s'han realitzat amb la mateixa metodologia: la del programa AMBER, el qual té una filosofia diferent. Enlloc de descriure cada capítol per separat, es descriuen les molècules estudiades conjuntament però dividint aquesta part de l'apèndix en:

- Obtenció de les càrregues atòmiques, per la metodologia RESP, per a cada molècula.
- Paràmetres afegits al parm94, per a cada molècula.
- Condicions dels càlculs (SANDER i GIBBS), per a cada sistema estudiat.

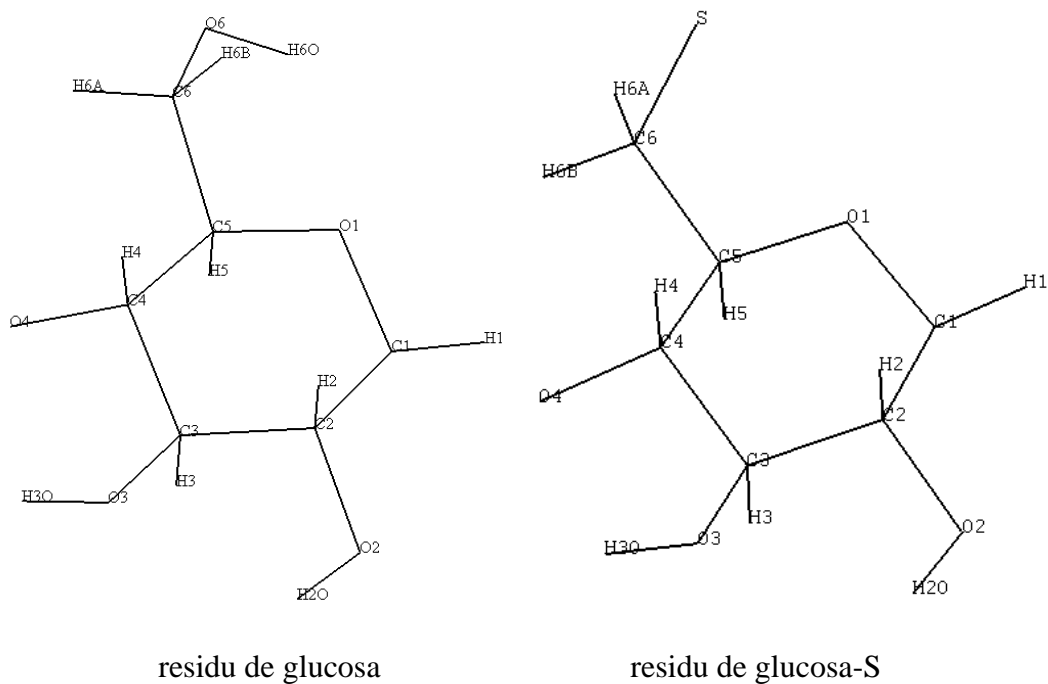
17 CÀRREGUES ATÒMIQUES DE LES MOLÈCULES ESTUDIADAES EN AMBER

Per cada una de les molècules estudiades s'indica la càrrega atòmica, calculada per la metodologia RESP, al costat del nom de l'àtom. A sota hi ha una figura orientativa per situar els àtoms de la taula a la molècula.

17.1 CICLODEXTRINES

Es construeixen a partir de residus de glucosa, les càrregues dels quals s'indiquen a continuació. El residu Glucosa-S és el que s'ha utilitzat per a construir les dues glucoses unides per pont disulfur en el dímer de α -ciclodextrina.

| Glucosa | | Glucosa-S | |
|---------|---------------|-----------|--------------|
| C1 | 0.081 | C1 | 0.183 |
| H1 | 0.182 | H1 | 0.154 |
| C2 | 0.063 | C2 | 0.039 |
| H2 | 0.122 | H2 | 0.128 |
| O2 | -0.526 | O2 | -0.550 |
| H2O | 0.419 | H2O | 0.427 |
| C3 | 0.052 | C3 | 0.072 |
| H3 | 0.124 | H3 | 0.121 |
| O3 | -0.625 | O3 | -0.615 |
| H3O | 0.416 | H3O | 0.402 |
| O1 | -0.372 | O1 | -0.390 |
| C5 | 0.024 | C5 | 0.018 |
| H5 | 0.087 | H5 | 0.098 |
| C6 | 0.168 | C6 | -0.036 |
| H6A | 0.017 | H6A | 0.089 |
| H6B | 0.070 | H6B | 0.103 |
| O6 | -0.595 | S | -0.105 |
| H6O | 0.375 | C4 | 0.040 |
| C4 | 0.101 | H4 | 0.138 |
| H4 | 0.125 | O4 | -0.316 |
| O4 | -0.309 | | 0.000 |
| | -0.001 | | |



S'ha determinat la càrrega de cada glucosa utilitzant tres conformacions d'un trímer de glucoses, com s'observa a la Figura 88.

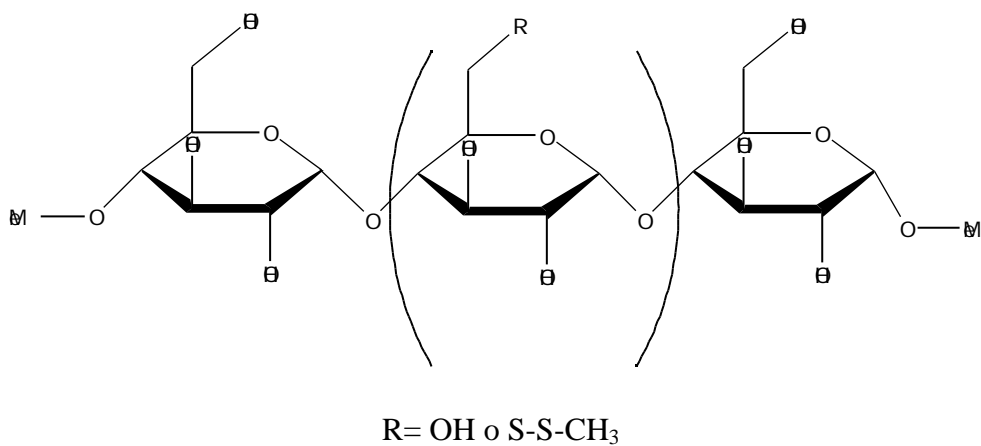
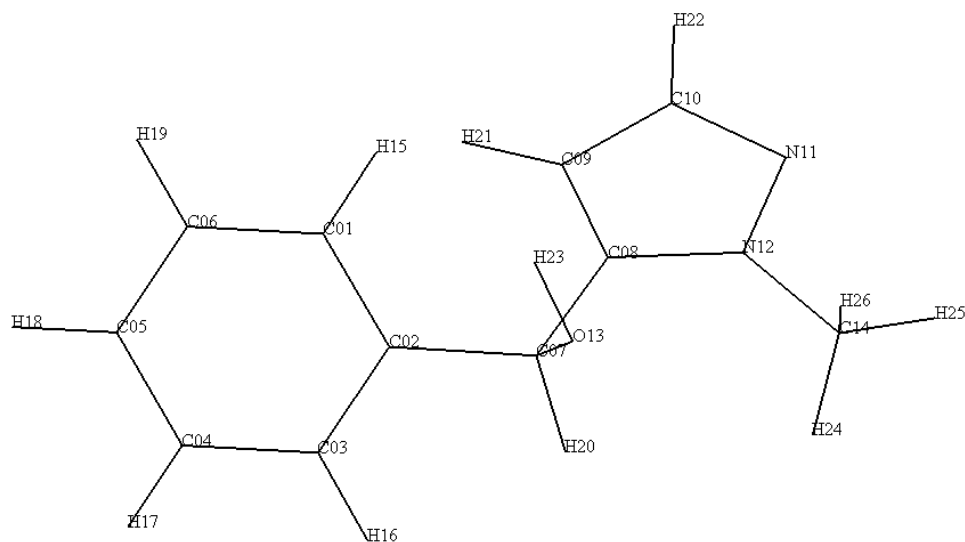


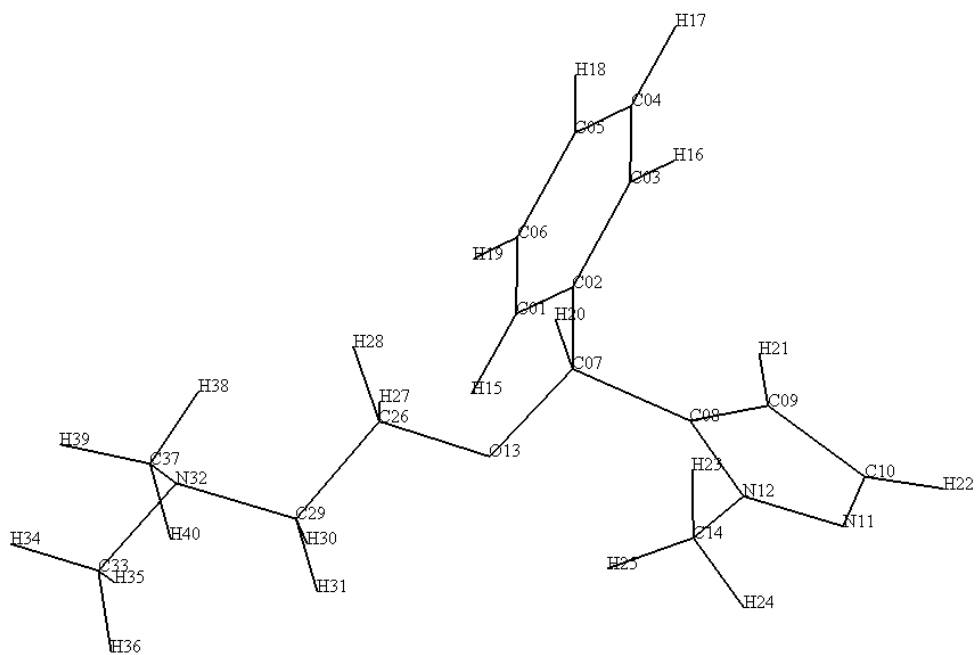
Figura 88. Molècules utilitzades per obtenir les càrregues RESP de la unitat central (entre parèntesis).

17.2 CARBINOL I CIZOLIRTINA

| Carbinol | | Cizolirtina | |
|----------|---------------|-------------|---------------|
| C03 | -0.111 | C03 | -0.107 |
| H16 | 0.127 | H16 | 0.130 |
| C04 | -0.173 | C04 | -0.164 |
| H17 | 0.144 | H17 | 0.137 |
| C05 | -0.113 | C05 | -0.109 |
| H18 | 0.136 | H18 | 0.130 |
| C06 | -0.173 | C06 | -0.164 |
| H19 | 0.144 | H19 | 0.137 |
| C01 | -0.111 | C01 | -0.107 |
| H15 | 0.127 | H15 | 0.130 |
| C02 | 0.026 | C02 | 0.003 |
| C07 | 0.117 | C07 | 0.017 |
| O13 | -0.581 | O13 | -0.338 |
| 3H2 | 0.401 | C26 | 0.060 |
| H20 | 0.071 | H27 | 0.072 |
| C08 | 0.065 | H28 | 0.072 |
| C09 | -0.372 | C29 | -0.098 |
| 1H2 | 0.192 | H30 | 0.104 |
| C10 | 0.087 | 1H3 | 0.104 |
| 2H2 | 0.148 | N32 | -0.312 |
| N11 | -0.484 | C33 | -0.164 |
| N12 | 0.194 | H34 | 0.089 |
| C14 | -0.025 | H35 | 0.089 |
| H24 | 0.054 | H36 | 0.089 |
| H25 | 0.054 | C37 | -0.164 |
| H26 | 0.054 | H38 | 0.089 |
| | -0.002 | H39 | 0.089 |
| | | H40 | 0.089 |
| | | H20 | 0.122 |
| | | C08 | 0.096 |
| | | C09 | -0.366 |
| | | 1H2 | 0.169 |
| | | C10 | 0.076 |
| | | 2H2 | 0.147 |
| | | N11 | -0.465 |
| | | N12 | 0.173 |
| | | C14 | -0.059 |
| | | 3H2 | 0.067 |
| | | H24 | 0.067 |
| | | H25 | 0.067 |
| | | | -0.003 |



molècula de carbinol precursor



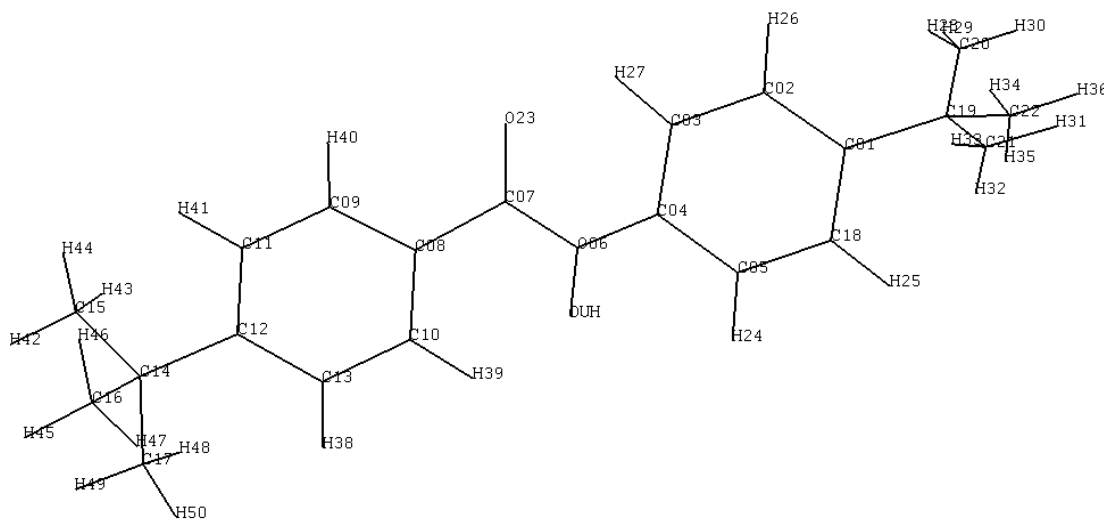
molècula de cizolirtina

S'han utilitzat sis conformacions per a cada molècula per a generar les càrregues de cada molècula.

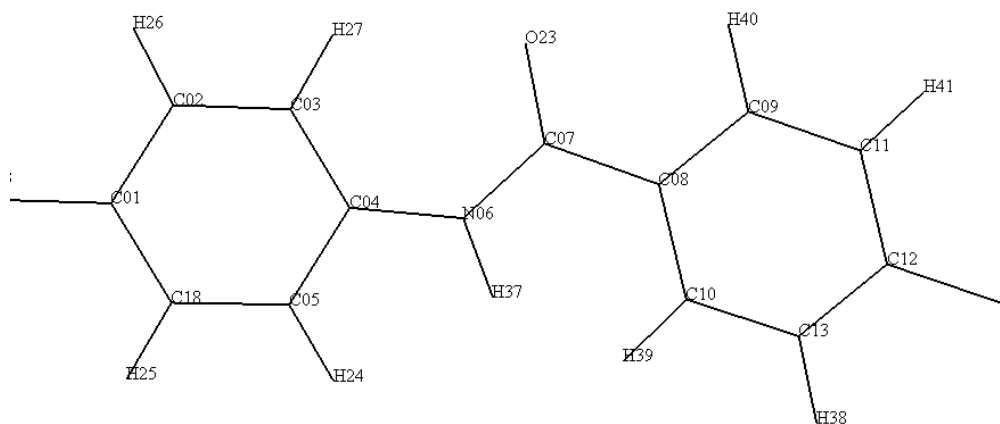
17.3 ESTER I AMIDA

| Amida | | Ester | |
|-------|--------------|-------|---------------|
| C20 | -0.197 | C20 | -0.188 |
| H28 | 0.034 | H28 | 0.033 |
| H29 | 0.034 | H29 | 0.033 |
| H30 | 0.034 | H30 | 0.033 |
| C19 | 0.400 | C19 | 0.388 |
| C21 | -0.197 | C21 | -0.188 |
| 1H3 | 0.034 | 1H3 | 0.033 |
| 2H3 | 0.034 | 2H3 | 0.033 |
| 3H3 | 0.034 | 3H3 | 0.033 |
| C22 | -0.197 | C22 | -0.188 |
| H34 | 0.034 | H34 | 0.033 |
| H35 | 0.034 | H35 | 0.033 |
| H36 | 0.034 | H36 | 0.033 |
| C01 | 0.031 | C01 | 0.022 |
| C02 | -0.241 | C02 | -0.239 |
| H26 | 0.144 | H26 | 0.158 |
| C03 | -0.164 | C03 | -0.136 |
| H27 | 0.178 | H27 | 0.141 |
| C18 | -0.241 | C18 | -0.239 |
| H25 | 0.144 | H25 | 0.158 |
| C05 | -0.164 | C05 | -0.136 |
| H24 | 0.178 | H24 | 0.141 |
| C04 | 0.205 | C04 | 0.188 |
| N06 | -0.620 | O06 | -0.367 |
| H37 | 0.268 | DUH | 0.000 |
| C07 | 0.721 | C07 | 0.739 |
| O23 | -0.552 | O23 | -0.536 |
| C08 | -0.100 | C08 | -0.096 |
| C10 | -0.142 | C10 | -0.137 |
| H39 | 0.162 | H39 | 0.141 |
| C13 | -0.166 | C13 | -0.167 |
| H38 | 0.125 | H38 | 0.137 |
| C12 | 0.009 | C12 | 0.001 |
| C11 | -0.166 | C11 | -0.167 |
| 1H4 | 0.125 | 1H4 | 0.137 |
| C09 | -0.142 | C09 | -0.137 |
| H40 | 0.162 | H40 | 0.141 |
| C14 | 0.337 | C14 | 0.344 |
| C16 | -0.157 | C16 | -0.181 |
| H45 | 0.030 | H45 | 0.036 |
| H46 | 0.030 | H46 | 0.036 |
| H47 | 0.030 | H47 | 0.036 |
| C17 | -0.157 | C17 | -0.181 |
| H48 | 0.030 | H48 | 0.036 |
| H49 | 0.030 | H49 | 0.036 |
| H50 | 0.030 | H50 | 0.036 |
| C15 | -0.157 | C15 | -0.181 |
| 2H4 | 0.030 | 2H4 | 0.036 |
| 3H4 | 0.030 | 3H4 | 0.036 |
| H44 | 0.030 | H44 | 0.036 |
| | 0.005 | | -0.007 |

Per calcular les càrregues de l'ester i l'amida només s'ha utilitzat una sola conformació per a cada molècula.



molècula ester (notar la presència de l'àtom fictici DUH: en la FEP es transforma en l'hidrogen unit al N de l'amida)

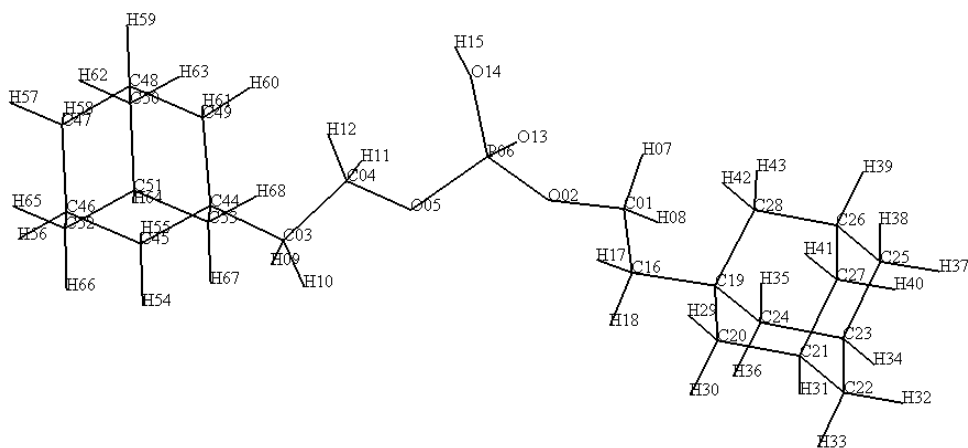


molècula amida (en aquest cas no s'indiquen els *tert*-butils dels extrems; la numeració és la mateixa que per a l'ester)

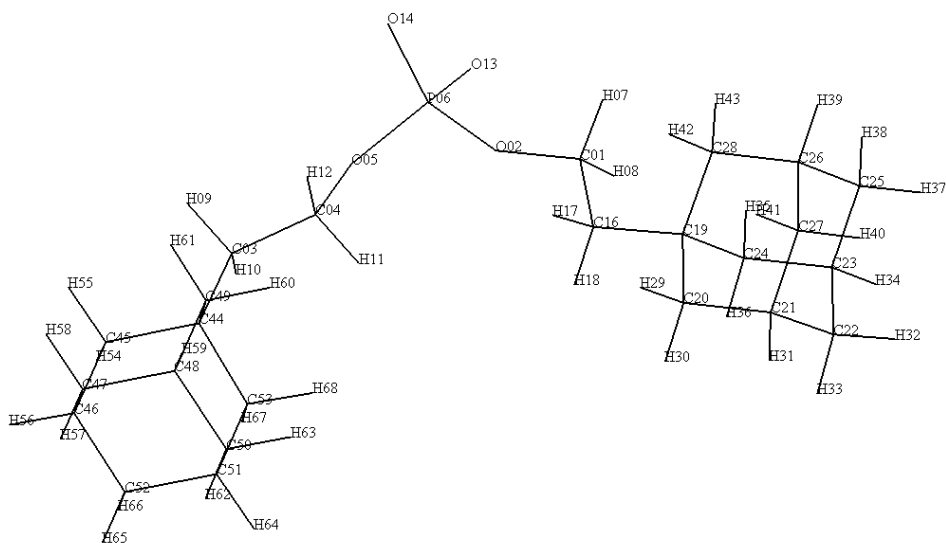
17.4 BISADAMANTIL-FOSFAT

| Bisadamantil-fosfat neutre | | Bisadamantil-fosfat aniònic | |
|----------------------------|---------------|-----------------------------|---------------|
| C22 | -0.032 | C22 | 0.000 |
| 2H3 | 0.012 | 2H3 | -0.018 |
| 3H3 | 0.006 | 3H3 | -0.018 |
| C23 | 0.020 | C23 | 0.007 |
| H34 | -0.011 | H34 | -0.018 |
| C25 | -0.032 | C25 | 0.000 |
| H37 | 0.012 | H37 | -0.018 |
| H38 | 0.006 | H38 | -0.018 |
| C26 | 0.020 | C26 | 0.007 |
| H39 | -0.011 | H39 | -0.018 |
| C27 | -0.032 | C27 | 0.000 |
| H40 | 0.012 | H40 | -0.018 |
| 1H4 | 0.006 | 1H4 | -0.018 |
| C21 | 0.020 | C21 | 0.007 |
| 1H3 | -0.011 | 1H3 | -0.018 |
| C20 | -0.023 | C20 | -0.014 |
| H29 | 0.004 | H29 | -0.028 |
| H30 | 0.004 | H30 | -0.028 |
| C19 | 0.058 | C19 | 0.404 |
| C28 | -0.023 | C28 | -0.014 |
| 2H4 | 0.004 | 2H4 | -0.028 |
| 3H4 | 0.004 | 3H4 | -0.028 |
| C24 | -0.023 | C24 | -0.014 |
| H35 | 0.004 | H35 | -0.028 |
| H36 | 0.004 | H36 | -0.028 |
| C16 | 0.044 | C16 | 0.007 |
| H17 | 0.015 | H17 | -0.074 |
| H18 | 0.015 | H18 | -0.074 |
| C01 | 0.194 | C01 | 0.375 |
| H07 | 0.022 | H07 | -0.065 |
| H08 | 0.022 | H08 | -0.065 |
| O02 | -0.470 | O02 | -0.486 |
| P06 | 1.162 | P06 | 0.958 |
| O13 | -0.655 | O13 | -0.649 |
| O14 | -0.615 | O14 | -0.649 |
| H15 | 0.420 | O05 | -0.486 |
| O05 | -0.470 | C04 | 0.375 |
| C04 | 0.194 | 1H1 | -0.065 |
| 1H1 | 0.022 | 2H1 | -0.065 |
| 2H1 | 0.022 | C03 | 0.007 |
| C03 | 0.044 | H09 | -0.074 |
| H09 | 0.015 | H10 | -0.074 |
| H10 | 0.015 | C44 | 0.404 |
| C44 | 0.058 | C49 | -0.014 |
| C49 | -0.023 | H60 | -0.028 |
| H60 | 0.004 | 1H6 | -0.028 |
| 1H6 | 0.004 | C53 | -0.014 |
| C53 | -0.023 | H67 | -0.028 |
| H67 | 0.004 | H68 | -0.028 |
| H68 | 0.004 | C45 | -0.014 |

| | | | |
|-----|---------------|-----|---------------|
| C45 | -0.023 | H54 | -0.028 |
| H54 | 0.004 | H55 | -0.028 |
| H55 | 0.004 | C46 | 0.007 |
| C46 | 0.020 | H56 | -0.018 |
| H56 | -0.011 | C47 | 0.000 |
| C47 | -0.032 | H57 | -0.018 |
| H57 | 0.012 | H58 | -0.018 |
| H58 | 0.006 | C48 | 0.007 |
| C48 | 0.020 | H59 | -0.018 |
| H59 | -0.011 | C50 | 0.000 |
| C50 | -0.032 | 2H6 | -0.018 |
| 2H6 | 0.012 | 3H6 | -0.018 |
| 3H6 | 0.006 | C51 | 0.007 |
| C51 | 0.020 | H64 | -0.018 |
| H64 | -0.011 | C52 | 0.000 |
| C52 | -0.032 | H65 | -0.018 |
| H65 | 0.012 | H66 | -0.018 |
| H66 | 0.006 | | -0.998 |
| | -0.008 | | |



molècula del bisadamantil-fosfat neutre



molècula del bisadamantil-fosfat aniònic

18 PARÀMETRES INTRODUÏTS AL FRCMOD.PAR QUE NO EREN PRESENTS AL PARM94

Els paràmetres introduïts s'indiquen en el format del parm94: els noms inicials indiquen els tipus d'àtom i seguidament s'indiquen els valors dels paràmetres.

18.1 PARÀMETRES CICLODEXTRINES

Només un paràmetre per a definir un angle:

Tipus d'àtom K Teq (constant de força i angle d'equilibri)

OS-CT-OS 80.0 126.00

18.2 PARÀMETRES CARBINOLS I CIZOLIRTINA

Paràmetres enllaç (tipus d'àtom K Req: constant de força i distància d'equilibri)

CT CW 310. 1.535 C* CV 469. 1.418

CW N* 410. 1.385 NB N* 22. 1.386

C* HA 367. 1.075

Paràmetres angle (Tipus d'àtom K Teq)

CA CT OH 63.00 110.0 H1 CT CW 50.0 108.0

CA CT H1 50.0 108.0 CW C* HA 35.0 127.3

CA CT CW 63.0 112.3 CW C* CV 80.0 105.8

CT CW C* 70.0 131.0 CW N* NB 80.0 111.7

CT CW N* 70.0 122.0 CW N* CT 70.0 128.1

OH CT CW 50.0 111.1 C* CV H4 35.0 127.4

| | | | | | | |
|----------|------|-------|--|----------|-------|-------|
| C* CV NB | 70.0 | 112.4 | | CV NB N* | 80.0 | 103.7 |
| C* CW N* | 70.0 | 106.5 | | NB N* CT | 70.0 | 120.0 |
| HA C* CV | 35.0 | 127.0 | | OS CT OS | 80.00 | 126.0 |

Paràmetres pels diedres (tipus d'àtom IDIVF PK PHASE PN)

| | | | | | | | | | |
|-------------|---|-------|--------|----|-------------|---|-------|--------|----|
| CA CT CW C* | 1 | 3.00 | 180.00 | 3. | CW N* NB CV | 4 | 14.50 | 180.00 | 2. |
| CA CT CW N* | 1 | 3.00 | 0.00 | 3. | CW C* CV H4 | 4 | 14.50 | 180.00 | 2. |
| CT CW N* NB | 4 | 14.50 | 180.00 | 2. | CW C* CV NB | 4 | 14.50 | 180.00 | 2. |
| CT CW N* CT | 4 | 14.50 | 180.00 | 2. | C* CW N* NB | 4 | 14.50 | 180.00 | 2. |
| OH CT CW C* | 1 | 3.00 | 180.00 | 3. | C* CW N* CT | 4 | 14.50 | 180.00 | 2. |
| OH CT CW N* | 1 | 3.00 | 0.00 | 3. | HA C* CV H4 | 4 | 14.50 | 180.00 | 2. |
| H1 CT CW C* | 1 | 3.00 | 180.00 | 3. | HA C* CV NB | 4 | 14.50 | 180.00 | 2. |
| H1 CT CW N* | 1 | 3.00 | 0.00 | 3. | CV NB N* CT | 4 | 14.50 | 180.00 | 2. |

Paràmetres pels diedres impropis

| | | | |
|-------------|-----|--------|----|
| CW CV C* HA | 1.1 | 180.00 | 2. |
| C* N* CW CT | 1.1 | 180.00 | 2. |
| NB CW N* CT | 1.1 | 180.00 | 2. |

18.3 PARÀMETRES ESTER I AMIDA

Massa (igual que un hidrogen) i radi (nul) per al àtom fantasma present a l'ester

DH 0.98 0.00

NB SET CHOSEN: MOD4 TYPE OF PARAMETER = RE

Type R* Eps

DH 0.0000 0.0000

Paràmetres enllaç

DH-OS 434.0 1.010

CA-OS 570.0 1.229

OS-C 570.0 1.229

Paràmetres pels angles

| | | | | | |
|----------|------|--------|----------|------|--------|
| DH-OS-CA | 30.0 | 119.80 | CT-OS-C | 50.0 | 115.00 |
| DH-OS-CT | 30.0 | 119.80 | OS-C -CA | 70.0 | 112.00 |
| DH-OS-C | 30.0 | 119.80 | OS-C -CT | 70.0 | 120.00 |
| CA-CA-OS | 70.0 | 120.40 | O -C -CA | 70.0 | 122.40 |
| OS-C -O | 80.0 | 126.00 | OS-CT-OS | 80.0 | 126.00 |
| C -OS-CA | 70.0 | 115.00 | | | |

Paràmetres pels diedres

| | | | | | | | | | |
|-------------|---|-------|-------|----|-------------|---|-------|-------|----|
| C -OS-CA-CA | 4 | 6.00 | 180.0 | 2. | DH-OS-C -CT | 4 | 10.00 | 180.0 | 2. |
| DH-OS-C -O | 1 | 2.50 | 180.0 | 2. | CA-OS-C -CA | 2 | 1.80 | 180.0 | 2. |
| CA-OS-C -O | 2 | 1.80 | 180.0 | 2. | CT-OS-C -CT | 2 | 1.80 | 180.0 | 2. |
| CT-OS-C -O | 2 | 1.80 | 180.0 | 2. | CA-CA-OS-DH | 4 | 6.00 | 180.0 | 2. |
| DH-OS-C -CA | 4 | 10.00 | 180.0 | 2. | | | | | |

Paràmetres pels diedres impropis

| | | | |
|-------------|------|-------|----|
| CA-HA-CA-CA | 1.10 | 180.0 | 2. |
| CA-CT-CA-CA | 1.10 | 180.0 | 2. |
| CT-CA-CA-CA | 1.10 | 180.0 | 2. |
| C -CA-CA-CA | 1.10 | 180.0 | 2. |
| CA-OS-CA-CA | 1.10 | 180.0 | 2. |
| DH-CA-OS-C | 1.10 | 180.0 | 2. |
| CT-C -OS-DH | 1.10 | 180.0 | 2. |

18.4 PARÀMETRES BISADAMANTIL-FOSFAT

Paràmetres enllaç

O2-P 525.0 1.566

OS-P 230.0 1.670

OH-P 230.0 1.670

Paràmetres pels angle

OS-CT-OS 80.0 126.00

HC-CT-OS 50.0 109.50

OS-CT-HC 50.0 109.50

19 CONDICIONS DELS CÀLCULS

19.1 ENANTIODIFERENCIACIÓ: CARBINOL I CIZOLIRTINA

Solvatació explícita d'aigua TIP3P amb condicions periòdiques de contorn. Doble tall per a les interaccions no-enllaçants de 8-13 Å cutoff. Escalfament fins 298 K, enregistrament de 500 ps guardant 500 snapshots. 2fs time-step, temperatura i pressió constant.

També s'han realitzat pertorbacions d'energia lliure per a transformar el carbinol *R* a *S*, dins la α -ciclodextrina, però al tenir que cobrir moltes orientacions diferents els 500 ps de pertorbació no han estat suficients per a donar resultats satisfactoris. S'haurien de realitzar FEP més llargues, com ja s'ha comentat en el capítol de reconeixement molecular, però la metodologia MM/PBSA ja ens dóna bons resultats sense tenir que consumir tant temps de CPU.

19.2 RECONeixEMENT MOLECULAR: ESTER I AMIDA

Solvatació explícita d'aigua TIP3P, condicions periòdiques de contorn, 8-13 Å cutoff. Escalfament fins 298 K, dinàmica de 500 ps salvant 500 snapshots. 2fs time-step, temperatura i pressió constant.

Les pertorbacions d'energia lliure s'han realitzat amb el mètode de finestres, cada mutació s'ha dividit en 201 finestres; Δt de 0,005. S'han realitzat pertorbacions de 500 ps (1 ps equilibri i 1,5 ps d'enregistrament a cada finestra), de 5 ns (5 ps equilibri i 20 ps

d'enregistrament), de 10 ns (10 ps equilibri i 40 ps d'enregistrament) i finalment de 20 ns (20 ps d'equilibri i 80 ps d'enregistrament a cada finestra).

També s'ha realitzat l'anàlisi MM/PBSA.

19.3 EFECTE QUELAT: BISADMANTIL-FOSFAT

Per a les simulacions de dinàmica molecular, totes les molècules i complexos han estat solvatats amb una caixa de molècules d'aigua TIP3P. Condicions periòdiques de contorn. 8 Å de cutoff primari i 13 Å pel secundari. Escalfament fins 298 K, dinàmica de 500 ps salvant 500 snapshots. 2fs time-step, temperatura i pressió constant.

Anàlisi MM/PBSA i avaluació de l'entropia de complexació amb NMODE, utilitzant sis estructures per a cada espècie, extretes de les dinàmiques, per obtenir una estimació de l'entropia.

19.4 CICLODEXTRINES GEGANTS

Les simulacions de dinàmica molecular s'han realitzat en fase gas i en solució aquosa (caixa de molècules d'aigua TIP3P i condicions periòdiques de contorn). 8 Å de cutoff primari i 13 Å pel secundari. Escalfament fins 298 K, 2fs time-step, temperatura i pressió constant, dinàmica de 2000 ps per CA6-CA9, per a la resta són de 5000 ps. Degut a problemes tècnics que han provocat l'aturada de certs càlculs hi ha dinàmiques més curtes, com és el cas de la CA12 en aigua (2370ps), la CA13 en aigua (2610 ps) i la CA26 en aigua (2598 ps amb estructura de partida plana i 3607 ps amb estructura

crystal·lina de partida), però hem considerat que ja teníem un temps suficient d'enregistrament i no les hem reiniciat.

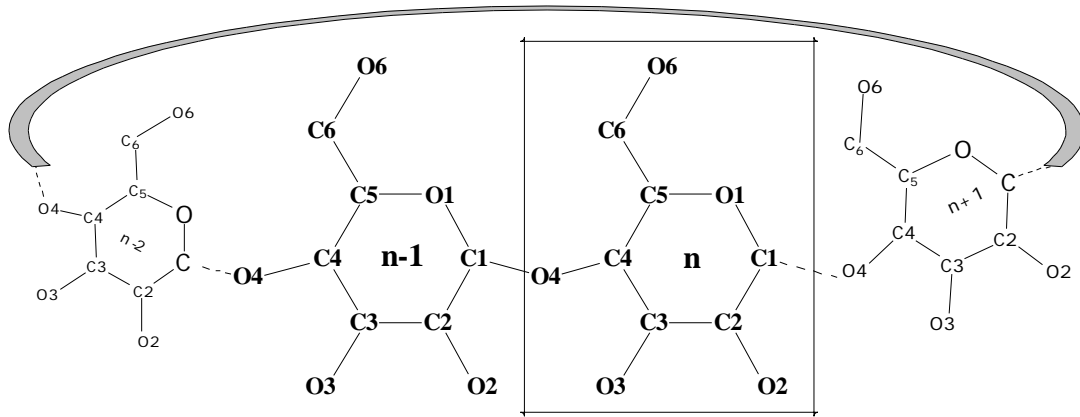
També s'ha realitzat l'anàlisi MM/PBSA per a totes les CA, i dividit el resultat pel número de glucoses de cada CA.

Fitxer de comandes per a calcular el RMS:

```
FILES_IN
  PARM p1 CA26w_prm.top.Z;
  STREAM s1 CA26w_md3.trj.Z;
  STATIC ref_set CA26w_md3.crd;
FILES_OUT
  TABLE tab1 CA26w.rms;
DECLARE
  GROUP grp1 ((ATOM NAME C1 C4 O4)&(RES NAME CD?));
  RMS fit1 FIT grp1 s1 ref_set;
  GROUP grp2 ((ATOM NAME C1 C2 C3 C4 O4)&(RES NAME CD?));
  RMS fit2 grp2 fit1;
OUTPUT
  TABLE tab1 fit1 fit2;
END
```

La desviació en el RMS ens dóna informació de com varia l'estructura al llarg de la dinàmica molecular. Agafem com a referència (per comparar) l'estat final de la dinàmica (CA26w_md3.crd) i amb aquest anem comparant totes les altres estructures.

Observem les variacions al superposar l'esquelet de la CA (no pas tots els àtoms, sempre tindriem diferències grans). Com a esquelet entenem els àtoms que formen una línia contínua en la CA (C1, C2, C3, C4 i O4), així les diferències en RMS ens indicaran els replegaments i girs que s'efectuen.



Representació esquemàtica d'una cicloamilosa. Es divideix en residus, unitats de glucosa (n, n+1, n-1, ...), i cada àtom s'identifica per un nom (C1, C2, C3...).

Fitxer de comandes per calcular les distàncies:

```

FILES_IN
  PARM p1 CA26w_prm.top.Z;
  STREAM s1 CA26w_md3.trj.Z;
FILES_OUT
  TABLE tab1 CA26w_o1.tab;
  ...
  TABLE tab26 CA26w_o26.tab;
  TABLE tab29 CA26w_sec1.tab;
  ...
  TABLE tab54 CA26w_sec26.tab;
DECLARE
  DIST o1 O4 1 O4 2; → distància entre oxígens glucosídics O4(n)-O4(n+1).
  ...
  DIST o26 O4 26 O4 1;
  DIST sec1 O2 2 O3 1; → distància entre els hidroxils secundaris O2(n)-O3(n-1).
  ...
  DIST sec26 O2 1 O3 26;
OUTPUT
  TABLE tab1 o1;
  ...
  TABLE tab26 o26;
  TABLE tab29 sec1;
  ...
  TABLE tab54 sec26;
END
    
```

Fitxer de comandes per calcular els angles:

```

FILES_IN
  PARM p1 CA26w_prm.top.Z;
  STREAM s1 CA26w_md3.trj.Z;
FILES_OUT
  TABLE tab1 CA26w_ooo1.tab;
  ...
  TABLE tab26 CA26w_ooo26.tab;
  TABLE tab29 CA26w_coc1.tab;
  ...
  TABLE tab54 CA26w_coc26.tab;
DECLARE
  ANGLE ooo1 O4 1 O4 2 O4 3; → angle entre els O4(n)···O4(n+1)···O4(n+2)
  ...
  ANGLE ooo26 O4 26 O4 1 O4 2;
  ANGLE coc1 C1 2 O4 1 C4 1; → angle d'enllaç glucosídic C1(n)···O4(n-1)-C4(n-1)
  ...
  ANGLE coc26 C1 1 O4 26 C4 26;
OUTPUT
  TABLE tab1 ooo1;
  ...
  TABLE tab26 ooo26;
  TABLE tab29 coc1;
  ...
  TABLE tab54 coc26;
END

```


Fitxer de comandes per calcular els diedres:

```

FILES_IN
  PARM p1 CA26w_prm.top.Z;
  STREAM s1 CA26w_md3.trj.Z;
FILES_OUT
  TABLE tab1 CA26w_oooo1.tab;
  ...
  TABLE tab26 CA26w_oooo26.tab;
  TABLE tab29 CA26w_fi1.tab;
  ...
  TABLE tab54 CA26w_fi26.tab;
  TABLE tab57 CA26w_teta1.tab;
  ...
  TABLE tab82 CA26w_teta26.tab;
  TABLE tab85 CA26w_flip1.tab;
  ...
  TABLE tab110 CA26w_flip26.tab;
DECLARE
  TORSION oooo1 O4 1 O4 2 O4 3 O4 4;
  ... → diedre entre els O glucosídics O4(n)···O4(n+1)···O4(n+2) )···O4(n+3)
  TORSION oooo26 O4 26 O4 1 O4 2 O4 3;
  TORSION fi1 C1 2 O4 1 C4 1 C3 1;
  ... → diedre phi φ : C1(n)···O4(n-1)-C4(n-1)-C3(n-1)
  TORSION fi26 C1 1 O4 26 C4 26 C3 26;
  TORSION teta1 O1 2 C1 2 O4 1 C4 1;
  ... → diedre theta θ : O1(n)-C1(n)···O4(n-1)-C4(n-1)
  TORSION teta26 O1 1 C1 1 O4 26 C4 26;
  TORSION flip1 O3 1 C4 1 C1 2 O2 2;
  ... → diedre entre els hidroxils secundaris O3(n)···C4(n)···C1(n+1)···O2(n+1)
  TORSION flip26 O3 26 C4 26 C1 1 O2 1;
OUTPUT
  TABLE tab1 oooo1;
  ...
  TABLE tab26 oooo26;
  TABLE tab29 fi1;
  ...
  TABLE tab54 fi26;
  TABLE tab57 teta1;
  ...
  TABLE tab82 teta26;
  TABLE tab85 flip1;
  ...
  TABLE tab110 flip26;
END

```

Fitxers de comandes per calcular els enllaços d'hidrogen:

```
FILES_IN
  PARM p1 CA26w_prm.top.Z;
  STREAM s1 CA26w_md3.trj.Z;
FILES_OUT
  HBOND h1 CA26w_hb;
DECLARE
  GROUP g1 (ATOM TYPE OH OS); → tots O de la CA com a acceptors d'hidrogen
  GROUP g2 (ATOM TYPE OH OW); → hidroxils de la CA i aigua com a donors
OUTPUT
  HBOND h1 DONOR g2 ACCEPTOR g1 STATS;
END
Enllaços d'hidrogen dins la CA i amb l'aigua com a donor d'hidrogen
```

```
FILES_IN
  PARM p1 CA26w_prm.top.Z;
  STREAM s1 CA26w_md3.trj.Z;
FILES_OUT
  HBOND h1 CA26w_hb2;
DECLARE
  GROUP g1 (ATOM TYPE OW); → tots O de l'aigua com a acceptors
  GROUP g2 (ATOM TYPE OH); → hidroxils de la CA com a donors
OUTPUT
  HBOND h1 DONOR g2 ACCEPTOR g1 STATS;
END
Enllaços d'hidrogen dels hidroxils de la CA com a donors d'hidrogen amb l'aigua.
```

Definició dels símbols de tipus d'àtom:

OH = hidroxils secundaris (O2, H2O, O3 i H3O), hidroxils primaris (O6, H6O) de la CA.

OS = oxígens tipus éster (O1) i oxígens glucosídics (O4) de la cicloamilosa.

OW = molècules d'aigua (OW i HW).

Els enllaços d'hidrogen es calculen en dos fitxers separats per què si empréssim un sol fitxer com ara:

```
GROUP g1 (ATOM TYPE OH OS OW);
```

```
GROUP g2 (ATOM TYPE OH OW);
```

Obtindríem tots els enllaços d'hidrogen de l'aigua (OW) amb l'aigua (OW), i com tenim milers de molècules d'aigua en resultarien fitxers de resultats immensos i que a més no ens proporcionen cap informació. Dividint el fitxer de comandes en dues parts ens evitem aquest problema.

FE D'ERRADES

- Pàg 23: l'estructura del *host* (tiourea) és compresa (falta l'accent).
- Pàg 39: “complexes” per “**complexos**”.
- Pàg 47: CA26 es defineix com a “doble hèlix simple esquerra”, millor **levògira**.
- Pàg 69, 83, 97, 119, 145, Monty Pyrthon no, és Monty **Python**.
- Pàg 88: “pyrr” hauria de ser “**pyr**”, en diverses posicions en el text.
- Pàg 91, ROESY (*rotating-frame nuclear Overhauser Spectroscopy*) hauria de ser *Spectroscopy*.
- Pàg 119 els grups adamantil de l'esquerra a la figura 34 han d'estar tancats.
- Pàg 210, falten frases al final de la pàgina:

la magnitud i direcció del dicroïsme circular induït es pot relacionar amb **l'orientació d'una molècula dins la CyD⁸⁷, també es pot relacionar una major o menor discriminació quiral amb la conformació que adopta el complex⁸⁸.**
- ⁸⁷ Mayer, B.; Zhang, X.; Nau, W.M.; Marconi, G.; *J. Am. Chem. Soc.*, 2001, 123, 5240.
- ⁸⁸ Hembury, G.; Rekharsky, M.; Nakamura, A.; Inoue, Y.; *Org. Lett.*, 2000, 2 (21), 3257.
- Pàg 230 A la primera frase; “compren” hauria de ser “comprèn”.
- Pàg 253 i 257, a la Taula 43 i a la Taula 44 s'indica Distància C=N i hauria de ser Distància C-N.
- Pàg 273, “Paràmetres pels angle” hauria de ser “Paràmetres pels angles”.