



Universidad de Valladolid

Facultad de Ciencias

TRABAJO FIN DE GRADO

Grado en Química

Estudio de la hernandulcina: Conexión estructura-propiedad

Autor: Alba Arribas Sanz

Tutores: Iker León y José Luis Alonso

ÍNDICE

1. RESUMEN/ ABSTRACT	1
2. INTRODUCCIÓN.....	3
2.1. Importancia del dulzor	3
2.2. Edulcorantes en la actualidad	4
2.2.1. Uso de edulcorantes en la dieta.....	4
2.2.2. Uso de edulcorantes en fármacos.....	4
2.3. Percepción del dulzor	5
2.3.1. Percepción general del gusto	5
2.3.2. Mecanismos de percepción del dulzor	6
2.3.3. Relación estructura-propiedad del dulzor	7
3. JUSTIFICACIÓN	10
4. OBJETIVOS.....	12
5. METODOLOGÍA	13
5.1. Mecánica molecular.....	13
5.1.1. Superficies de energía potencial	13
5.1.2. Campos de fuerzas	14
5.2. Métodos mecanocuánticos.....	17
5.2.1. Métodos basados en la función de onda	18
5.2.1.1. Métodos perturbativos moller-pleisset.....	18
5.2.2. Métodos semiempíricos.....	19
5.2.2.1. Parametric model 6	19
5.2.3. Teoría del funcional de la densidad (DFT).....	20
5.2.3.1. Funcional B3LYP.....	21
5.2.3.2. Funcional M062X	21
5.2.3.3. Dispersiones de grimme y de becke johnson	21
5.2.4. Bases de cálculo	23
5.3. Espectroscopía de rotación.....	25
5.3.1. Fundamentos.....	25
5.3.2. Expansión supersónica y ablación láser	27
5.3.3. Rotación interna.....	28

6. RESULTADOS	29
6.1. Búsqueda conformacional	29
6.1.1. Comparativa de bases y niveles de cálculo	33
6.2. Predicción del espectro.....	40
6.2.1. Evaluación de la existencia de rotación interna.....	45
6.3. Correspondencia con el triángulo del dulzor.....	47
7. CONCLUSIONES	50
8. BIBLIOGRAFÍA	51
9. ÍNDICE DE FIGURAS, TABLAS Y ECUACIONES.	54

1. RESUMEN

En este trabajo de fin de grado se estudia el panorama conformacional de la hernandulcina, una molécula de origen natural que posee un gran potencial como edulcorante. Para buscar las estructuras más relevantes, se hace uso de métodos computacionales. En primer lugar, se buscan los posibles conformeros con mecánica molecular. Posteriormente, las estructuras se optimizan con métodos del Teorema del Funcional de la Densidad. Esto nos permite realizar una predicción de los espectros de rotación y evaluar la existencia de rotación interna en la molécula, que será de gran ayuda de cara a una posterior experimentación. Finalmente, se comprobará si las estructuras más relevantes de la molécula cumplen con los requisitos de la teoría del dulzor de Shallenberger-Acree-Kier. Para ello, se evaluará la correspondencia entre los parámetros geométricos de los conformeros más estables con la teoría del dulzor.

Por otro lado, se comparan las 30 estructuras más estables empleando distintas funciones de base y niveles de cálculo, incluyendo métodos semiempíricos, DFT y post-Hartree-Fock, cuyos resultados se procesan para dilucidar que estructuras proporcionan resultados más fiables y el coste computacional que implica cada metodología.

Palabras clave: (Dulzor, Química Computacional, Espectroscopia de Rotación, Conformeros)

ABSTRACT

In this work the conformational landscape of the hernandulcin, a molecule of natural source with great potential as sweetener, is studied. In order to find the most relevant structures, computational methods are used. In first place, molecular mechanics is employed to find the possible conformers. Afterwards, the structures are optimized using Density Functional Theory methods. This allows us to predict the rotational spectra and to evaluate the existence of internal rotation, which will be of great help in a possible future experimentation. Finally, whether the most relevant structures of the molecule fulfil the requirements of the sweet taste theory proposed by Shallenberger-Acree-Kier will be evaluated. In order to this, the correspondence between the geometrical parameters of the most stable conformers will be evaluated according to the sweet taste theory.

Additionally, the 30 most stable structures are compared employing different basis sets and levels of theory, including semiempirical, DFT, and post-Hartree-Fock, and the results are processed to elucidate their reliability and their computational cost.

Keywords: (Sweetness, Computational Chemistry, Rotational Spectroscopy, Conformers)

2. INTRODUCCIÓN

El dulzor es uno de los cinco sabores básicos que universalmente se asocia a una sensación agradable. Lo que percibimos como dulce es generalmente causado por el sabor de los azúcares naturales, tales como los que podemos encontrar en frutas y miel. Existen otros tipos de sustancias que activan en el gusto la respuesta de las células sensoriales responsables del dulzor. Algunos ejemplos de ello son ciertos amino ácidos, alcoholes, aldehídos o cetonas.

2.1. IMPORTANCIA DEL DULZOR

La razón de la preferencia por el dulzor tiene un sentido evolutivo, tal y como se describe en numerosas investigaciones como las de Hladick *et al.*¹ Estos estudios sugieren que la capacidad de identificar moléculas dulces permite a los seres vivos detectar fuentes de azúcares simples. El agrado por el dulzor está relacionado con la presencia de vitaminas y minerales, la madurez de las frutas y la presencia de azúcares fácilmente metabolizables, que proporcionan una fuente de energía rápidamente accesible para el organismo. Por otro lado, se cree que la utilidad evolutiva reside no sólo en el dulzor, sino en una escala dulce-amargo (sabores considerados opuestos), de forma que un sabor dulce se relaciona con una fuente energética, y un sabor amargo se corresponde con una señal de toxicidad. Gracias a esta escala, un animal puede considerar si una planta es beneficiosa y por tanto comestible o si debe ser rechazada por la presencia de potenciales toxinas²⁻⁴. La percepción del dulzor se relaciona con el consumo de vegetales debido a que, tras realizar estudios en animales, se ha llegado a la conclusión de que la preferencia por los sabores dulces tiene lugar en especies cuya dieta está basada en plantas, mientras que los estrictamente carnívoros no poseen sensibilidad al dulzor. Estos animales bien han perdido alguna de las proteínas que actúan como receptor, o bien los genes que las codifican han pseudogenizado. Se ha comprobado que hay ejemplos de animales distintos con antepasados comunes en los que unos han perdido los mecanismos de recepción del dulzor al prescindir de las plantas en su dieta, mientras que no lo hacen los que siguen consumiendo plantas. Por ejemplo, la nutria asiática (*Aonyx cinereus*), estrictamente carnívora, no es capaz de detectar compuestos que los humanos percibimos como dulces, mientras que el oso andino (*Tremarctos ornatus*), cuya dieta es omnívora, muestra una fuerte preferencia por los azúcares y algunos edulcorantes.^{2,5}

Otro indicio de la importancia del dulzor desde un punto de vista evolutivo puede observarse en el hecho de que, en los recién nacidos, el gusto es el sentido más desarrollado junto con el dolor. Concretamente el dulzor es uno de los primeros estímulos que se pueden percibir positivamente de forma innata, produciendo respuesta incluso a disoluciones muy diluidas de azúcar. Los estudios de comparación genética pueden aportar información que ayude a entender cómo nuestra historia

evolutiva ha modificado nuestro sentido del gusto y dieta. Este conocimiento es necesario para comprender por qué en la actualidad poseemos una predilección por este tipo de sabor, que nos ha llevado a utilizar sustancias dulces en nuestra alimentación, muchas veces añadidas artificialmente.

6,7

2.2. EDULCORANTES EN LA ACTUALIDAD

Debido a la preferencia que poseemos por el sabor dulce, se han buscado y desarrollado sustancias comestibles que tengan este sabor y no sean necesariamente azúcares. Un ejemplo claro son los aditivos alimentarios, que son sustancias que normalmente no se consumen como alimentos en sí mismos, sino que se añaden intencionalmente a los alimentos con un fin determinado como la conservación del alimento o la modificación de sus propiedades.⁸

De forma más específica, los edulcorantes son sustancias naturales o artificiales con la propiedad de producir un sabor dulce similar al del azúcar. Los edulcorantes artificiales se definen en el Código Alimentario Español como sustancias sápidas sintéticas que, sin tener cualidades nutritivas, poseen un poder edulcorante superior al de cualquier hidrato de carbono al que sustituyen o refuerzan.⁹

A continuación, se detallan dos de los usos más importantes que se dan a los edulcorantes hoy en día.

2.2.1. USO DE EDULCORANTES EN LA DIETA

Debido a la preferencia por los alimentos dulces, existe una tendencia por recurrir a alimentos que posean esta cualidad. El efecto en los seres humanos ha sido tal que la abundancia de azúcar en la dieta moderna ha llegado a niveles nocivos en algunos casos, relacionándose directamente con el aumento de enfermedades como obesidad, diabetes, hipertensión y caries. Por ello, se ha buscado sustituirlo con edulcorantes no calóricos que ayuden a disminuir su incidencia, siendo la principal razón del uso y desarrollo de edulcorantes en comida, bebida y otros productos como pasta de dientes.¹⁰

2.2.2. USO DE EDULCORANTES EN FÁRMACOS

El sabor es el factor que más influye en cuanto a la aceptación de los fármacos administrados por vía oral, y es un requisito importante cuando se trata de pastillas o comprimidos que poseen de por sí un sabor amargo, especialmente cuando se destinan a pacientes pediátricos o geriátricos. Es también un factor importante a considerar desde el punto de vista comercial, razón por la que se utilizan edulcorantes, ya sean artificiales o naturales, en la composición de los medicamentos.¹¹

Así mismo, se debe tener en cuenta que las interacciones entre el principio activo y los excipientes pueden afectar a la naturaleza química, estabilidad y la biodisponibilidad del medicamento, que darían lugar a cambios en la eficiencia y seguridad del fármaco. ¹²⁻¹⁴

Algunos de los edulcorantes que podemos encontrar en este campo son:

- La sacarosa es uno de los más utilizados, con ella se hacen siropes que aportan viscosidad y consistencia a los fluidos.
- La lactosa es otro azúcar ampliamente utilizado en farmacia como excipiente, especialmente en pastillas.
- La trehalosa se emplea en la conservación de la sangre destinada a las transfusiones ya que ayuda a incrementar el tiempo de vida de las plaquetas. También se utiliza para preservar los embriones sometidos a liofilización aumentando la duración de su viabilidad.
- El xilitol se utiliza en recubrimientos de vitaminas o como expectorantes por el efecto de vaporización que produce al tomarlo. Así mismo, puede encontrarse en la composición de suplementos alimentarios como aminoácidos, elementos traza o azúcares no reductores.

2.3. PERCEPCIÓN DEL DULZOR

En los apartados anteriores se ha manifestado la importancia de los edulcorantes, por ello, es fundamental conocer cómo funcionan para saber diseñar o encontrar nuevas sustancias dulces. Es decir, deben conocerse los mecanismos por los cuales percibimos los sabores.

2.3.1. PERCEPCIÓN GENERAL DEL GUSTO

El gusto, junto con el olfato, es uno de los sentidos que se percibe por medio de interacciones químicas, por lo que el sabor de una sustancia depende de su naturaleza y actividad química.

Existe un amplio espectro de sabores que implican sabores secundarios como el metálico o el de la grasa, así como sensaciones que implican la textura o la temperatura, pero para simplificar, nos centraremos en los cinco sabores básicos que podemos percibir los humanos: ácido, amargo, dulce, salado y umami. ^{15,16}

- El sabor ácido es desencadenado por un cambio en la concentración de protones en la membrana celular (Figura 1B).
- Para el sabor salado, el estímulo principal viene dado por la permeación de iones Na^+ a través de los canales en las papilas gustativas, que producen una despolarización de las células receptoras (Figura 1C).

- Por otra parte, los sabores dulce, amargo y umami se detectan por interacciones no covalentes de las sustancias que los provocan con los receptores. Dichos receptores son complejos heterodiméricos tipo T1R compuestos por proteínas (Figura 1A).

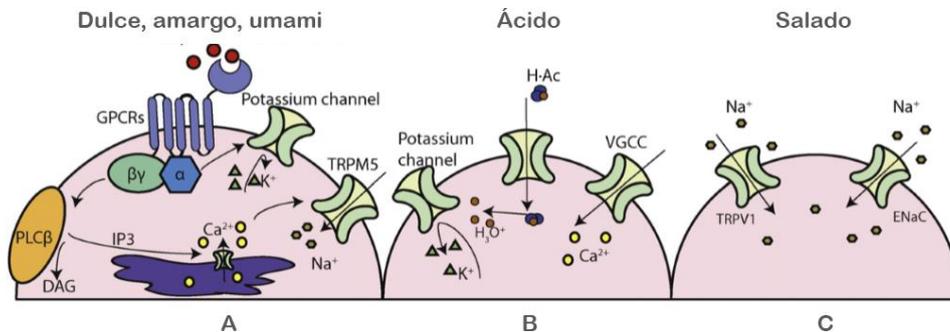


Figura 1: Mecanismos celulares de la percepción de distintos sabores. (A) sabores dulce, amargo y umami; (B) sabor ácido; (C) sabor salado.

2.3.2. MECANISMOS DE PERCEPCIÓN DEL DULZOR

Como este trabajo se centra en las moléculas dulces, cabe explicar con más detalle cómo se percibe este sabor. Las papilas gustativas albergan grupos de 50 a 100 células receptoras del sabor. Estas células pueden clasificarse atendiendo a su morfología como células de tipo I (asociadas generalmente a los sabores salado y posiblemente al ácido), II (asociadas a los sabores dulce, amargo y umami), III (presinápticas) o IV (basales). El mecanismo de transmisión que siguen se muestra de forma simplificada en la Figura 2.¹⁵

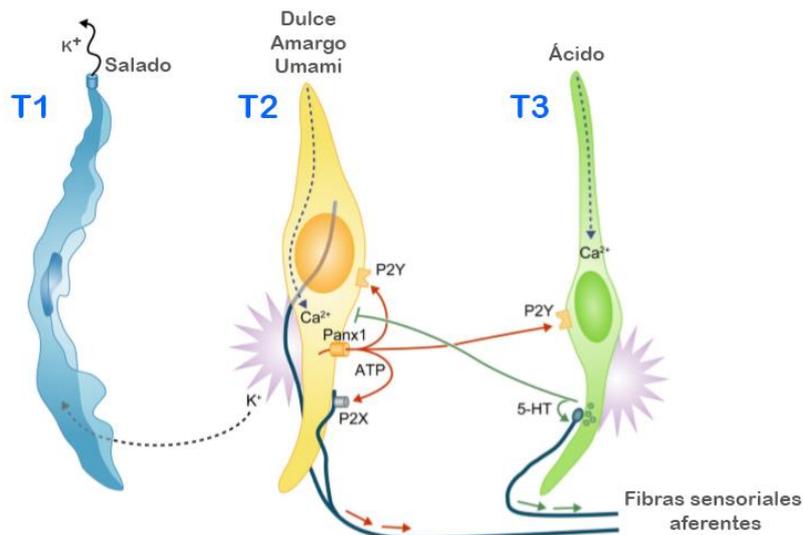


Figura 2: Representación de la morfología y funcionamiento de las células receptoras del gusto.

Las sustancias dulces se unen a los receptores que suelen ser proteínas fijadoras del nucleótido Guanina, conocidos simplemente como proteínas G, caracterizadas por depender del guanosín trifosfato (GTP) para activarse. Una vez activadas por la molécula dulce estimulan otros mecanismos. Se transforman moléculas de fosfatidilinositol 4,5-bifosfato (PIP2) a su homólogo trifosfato (PIP3) y diacilglicerol. El PIP3 abre los canales de calcio de la membrana celular y activa la calmodulina, produciéndose la despolarización de las células induciendo un aumento en el calcio intracelular libre, el cual es fundamental para liberar neurotransmisores como el adenosín trifosfato (ATP). Al liberar ATP al medio extracelular se estimula el nervio aferente del gusto y las células presinápticas adyacentes, las cuales liberan norepinefrina y serotonina. Una vez activado el mecanismo en las células receptoras del sabor, se produce la excitación del nervio aferente y las señales gustativas son transmitidas al sistema nervioso central a través de los nervios craneales. El dulzor y la sensación agradable que produce se perciben una vez que la información se ha llevado al cerebro, concretamente en el cortex cerebral, y ha sido procesada. ¹⁶⁻¹⁸

2.3.3. RELACIÓN ESTRUCTURA-PROPIEDAD DEL DULZOR

La sensación de dulzor que interpreta nuestro cerebro depende de la interacción de las proteínas receptoras ubicadas en las papilas gustativas con las moléculas responsables del dulzor. Una mayor cantidad de interacciones o fortaleza de las mismas aumentará la respuesta al gusto.

Desde principios del siglo XX, se han buscado las características que debe tener una molécula o sustancia para ser dulce. Las investigaciones realizadas entonces apuntaban a la necesidad de un determinado tipo de grupos funcionales en la estructura molecular de la sustancia dulce. En cuanto a las teorías generales sobre las sustancias sápidas, Faraday y Arrhenius propusieron la primera clasificación en la que proponían que los sabores ácido y salado eran generados por moléculas ionizables en disolución. Para el dulzor, Cohn reconoció la necesidad de poseer ciertos grupos funcionales en la estructura, los cuales aparecían en pares a los que llamó “glucógeno”. Posteriormente Kodama en 1920 descubrió el requisito de la existencia de “hidrógenos vibratorios” en una molécula para producir dulzor, que más tarde se asociaría al concepto de enlace de hidrógeno.

19

La teoría molecular del sabor dulce propuesta en 1963 por Shallenberger y Acree sugiere que el dulzor se percibe por medio de ciertas proteínas en las papilas gustativas por la existencia de un sistema donador/aceptor de protones (AH/B) entre la molécula responsable del dulzor y el receptor. Cabe destacar que los átomos A y B son electronegativos. A este conjunto de átomos se le denomina glucóforo, y tiene las características de electronegatividad y distancias entre los átomos adecuadas (2,5 – 3 Å), como se muestra en la Figura 3, para poder unirse a los receptores ubicados en las papilas

gustativas. A su vez, los receptores poseen un grupo de átomos similar y antiparalelo al glucóforo por el que pueden interactuar mediante puentes de hidrógeno.²⁰

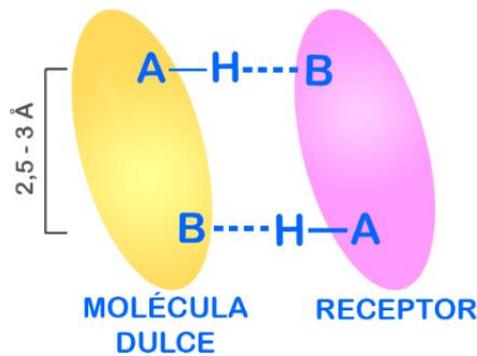


Figura 3: Glucóforo según la teoría de Shallenberger-Acree

Es importante tener en cuenta que la interacción entre la sustancia dulce y el receptor no ocurre en un medio libre de interacciones, si no en presencia de agua, que posee una gran importancia en el proceso como mediador entre la proteína y el edulcorante. Las moléculas de agua que rodean al

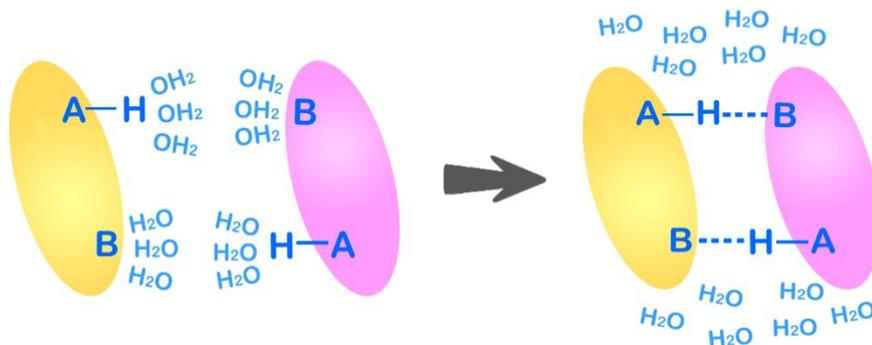


Figura 4: Interacción con el agua del glucóforo y el receptor.

glucóforo se disponen de forma ordenada a su alrededor formando una capa de hidratación. De hecho, la longitud de los enlaces de hidrógeno que forma la sustancia dulce con el agua se relaciona con la intensidad del dulzor ya que se puede relacionar con la distancia al receptor. Cuanto menor sea la distancia, mayor intensidad de señal existirá. Cuando el glucóforo se acerca al receptor, las moléculas de agua se desordenan y se produce el enlace de hidrógeno entre la sustancia dulce y el receptor, como se observa en la Figura 4. En este proceso se libera energía por la ruptura de la capa de agua organizada alrededor del receptor que produce un aumento de entropía.^{21,22}

Tras la propuesta de Shalleberger y Acree, se han realizado diversos estudios en distintas moléculas que revelan la necesidad de un tercer punto de unión, γ . Este tercer punto en la molécula propuesto por Kier en 1972²² tiene un papel importante en la potencia de la respuesta al dulzor, posee un carácter hidrofóbico e interactúa con el receptor mediante fuerzas dispersivas. Con la introducción de un tercer punto, el modelo AH/B/ γ crea una estructura tridimensional. Un ejemplo de su influencia se hace notable en el hecho de que los isómeros D de algunos aminoácidos son dulces, mientras que

los isómeros L no lo son. Para tener esta estereoselectividad son necesarios al menos tres puntos de unión. De esta manera se concluye la teoría de Shallenberger-Acree-Kier y el *triángulo del dulzor* según la cual el glucóforo está formado por tres puntos a unas distancias dadas, como puede verse en la Figura 5.²²

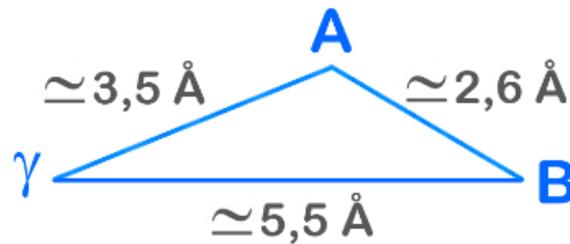


Figura 5: Triángulo del dulzor.

A pesar de que esta teoría pudiera parecer sencilla, ha explicado el dulzor en diversas moléculas. Se han planteado otras alternativas más complejas, pero las conclusiones finales son muy similares a la teoría propuesta por Shallenberger-Acree-Kier.

3. JUSTIFICACIÓN

La gran importancia que posee la alimentación en la salud y los problemas que causan las dietas modernas ricas en azúcar, hacen de vital trascendencia la investigación de los productos alimenticios existentes, así como la de nuevos aditivos que posean las características deseadas, pero cuyos efectos adversos sean mínimos o nulos.

De forma más concreta para el caso de los edulcorantes, sería posible mejorar las teorías actuales sobre su funcionamiento una vez conocidas las estructuras moleculares que interaccionan con los receptores del gusto responsables del sabor dulce. Con este conocimiento sería posible proponer el diseño de nuevos edulcorantes artificiales aptos para el consumo que cumplan con requisitos como maximizar el dulzor, disminuir el aporte calórico, o no producir alergias e intolerancias. Debe destacarse que, en numerosas ocasiones, una pequeña modificación en la molécula o cambio de quiralidad pueden transformar una molécula dulce en amarga. Por esta razón es importante estudiar la relación de las propiedades con la estructura.

Con este fin, el grupo de espectroscopía molecular (GEM) ha desarrollado técnicas que permiten la transferencia de moléculas termolábiles que se encuentran en fase sólida a fase gas. De esta forma, es posible observar los conformeros más estables en el espectro obtenido mediante espectroscopía de rotación, así como su abundancia, para poder determinar su estructura y comprobar si posee un grupo de átomos que forme el glucóforo. Con este objetivo se han estudiado en el grupo algunas cetohexosas como la fructosa, tagatosa, sorbosa y psicosa²³; polialcoholes como el sorbitol y dulcitol²⁴; y otras sustancias como la sacarina²⁵, todas ellas poseedoras en su estructura de un glucóforo como el descrito en la teoría de Shallenberger-Acree-Kier.

En este trabajo se estudiará la hernandulcina, (6S)-6-[(2S)-2-Hydroxy-6-methylhept-5-en-2-yl]-3-methylcyclohex-2-en-1-one, de fórmula molecular $C_{15}H_{24}O_2$ cuya estructura bidimensional puede verse en la Figura 6. Esta molécula es un sesquiterpenoide bisabotano de origen natural, posee intenso sabor dulce, relativa simplicidad estructural y es de síntesis sencilla.^{26,27}

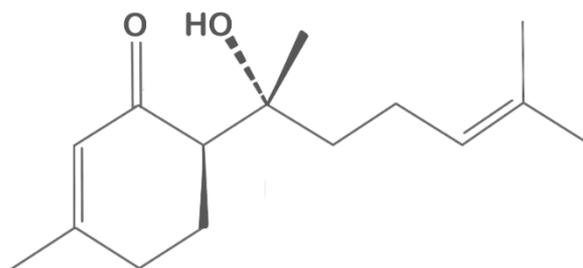


Figura 6: Estructura bidimensional de la hernandulcina.

La sustancia se extrae en una planta autóctona de centro américa llamada *Lippia Dulcis*, Figura 7 ²⁸, aunque recibe distintos nombres comunes dependiendo del país o zona, como por ejemplo “hierba dulce”. Esta planta fue documentada por primera vez por el médico, ornitólogo y botánico español Fernando Hernández (razón por la que se le da su nombre a la molécula) en su libro “Historia natural de Nueva España” escrito durante su viaje por el actual territorio de México en la década de 1570. Dicha planta se utilizaba en la medicina tradicional con diversas aplicaciones, e incluso hoy en día, para tratar resfriados o como antiinflamatorio. ^{27,29,30}



Figura 7: Planta *Lippia Dulcis*.

El grupo de investigación de la universidad de Illinois que descubrió y caracterizó la molécula, Compadre *et. al.* (1985) ³¹ ha realizado numerosos estudios sobre esta sustancia, en los que descartan que tanto la hernandulcina como varios derivados sean tóxicos o mutágenos, por lo que en principio se justifica su uso en la alimentación. Así mismo, el estudio de la pérdida del dulzor de sus derivados lleva a la conclusión de que es necesario el tercer punto de unión al receptor propuesto en la teoría de Kier para explicar el dulzor de esta molécula. ^{27,32}

Este trabajo se centra en realizar una búsqueda conformacional de la hernandulcina, con el fin de estudiar la relación entre las estructuras predominantes y sus propiedades dulces atendiendo a la teoría de Shallenberger-Acree-Kier. En caso de que exista correspondencia con la estructura de la teoría molecular del sabor dulce, se podrán identificar las características necesarias para que posea un glucóforo.

4. OBJETIVOS

El objetivo principal de este trabajo es realizar un estudio computacional de la molécula de hernandulcina con el propósito de dilucidar qué disposiciones adopta en un entorno libre de interacciones, y determinar cuáles serán sus conformeros más estables. Se pretende dar una información inicial de la molécula que sirva de base para posibles estudios posteriores, como por ejemplo en medios acuosos o formando complejos con unidades clave en las proteínas que actúan de receptor.

Obtener los conformeros más estables, sus momentos dipolares y constantes de rotación con el fin de predecir el espectro rotacional de la molécula, que facilite la posterior interpretación del espectro obtenido experimentalmente. También se preverá en qué región de frecuencias sería más conveniente realizar el experimento.

Comprobar si la hernandulcina es una sustancia cuyo dulzor se explique por la teoría de Shallenberger-Acree-Kier, lo que fundamenta el diseño de nuevos edulcorantes partiendo de estructuras moleculares semejantes.

Realizar una comparación de los resultados proporcionados por distintos niveles de cálculo, aprovechando que la molécula a estudiar es relativamente grande y existe poca información para estos casos, centrando más la investigación en los métodos DFT y distintas bases de Pople. Esto permitirá dilucidar cuales de los niveles de cálculo disponibles son los más adecuados para el estudio de moléculas con un gran número de átomos e interacciones intramoleculares.

5. METODOLOGÍA

Los estudios estructurales de este tipo se suelen realizar siguiendo dos líneas de trabajo. En primer lugar, se efectúa un análisis teórico de la molécula con el fin de obtener una visión del panorama conformacional, así como de las energías y parámetros espectroscópicos relevantes. Después, con la información obtenida, se comienza el trabajo experimental. Por último, se concluiría comparando los resultados de ambos procedimientos para dilucidar cuáles son los conformeros que presenta la molécula realmente.

Para este trabajo de fin de grado, nos centraremos en la primera parte teórica, cuyos resultados serán relevantes de cara a una posible experimentación posterior.

5.1. MECÁNICA MOLECULAR

Con el fin de buscar los distintos conformeros estructurales de una molécula sin hacer uso de métodos computacionales, sería necesario hacer uso de la intuición química a fin de encontrar las estructuras más relevantes. Esto conllevaría una gran cantidad de tiempo además de correr el riesgo de no considerar todos los conformeros.

Una metodología ampliamente utilizada para la búsqueda conformacional son los métodos basados en campos de fuerza. Estos emplean un tratamiento puramente clásico, por lo que ofrecen una aproximación muy simplificada en cuanto al cálculo de energías y parámetros estructurales, pero resultan muy efectivos para estudiar los posibles conformeros de sistemas con una elevada cantidad de estructuras o sistemas que posean un gran número de átomos en un tiempo reducido. Para ello, se buscan los mínimos de su curva de energía potencial mediante métodos de mecánica molecular.

5.1.1. SUPERFICIES DE ENERGÍA POTENCIAL

Como bien sabemos, una molécula puede adoptar infinitas disposiciones en el espacio cambiando las medidas de sus parámetros geométricos, y cada una de esas disposiciones tendrá una determinada energía. La representación de esa energía respecto de los parámetros geométricos se denomina superficie de energía potencial (SEP). En el caso de una molécula diatómica, donde se tiene un solo grado de libertad (la longitud del enlace), la representación de la energía viene dada por la curva de energía potencial en dos dimensiones. Éste sería el caso más sencillo, sin embargo, cuando se tratan moléculas poliatómicas la representación requiere de múltiples dimensiones, dando lugar a una hipersuperficie de energía potencial. En esta superficie se hallan mínimos correspondientes a las estructuras estables, denominadas conformeros, y todos los caminos de interconversión entre ellos incluyendo estados de transición, suele representarse como se observa en la Figura 8. Una

estructura de equilibrio se encuentra en un punto de la SEP para la que son cero todas las primeras derivadas de la energía con respecto a las coordenadas geométricas individuales y cuya representación diagonal de la matriz de derivadas segundas de la energía, tiene todos los elementos positivos. En términos simples, una estructura de equilibrio corresponde al fondo de un pozo en la superficie de energía potencial global.³³

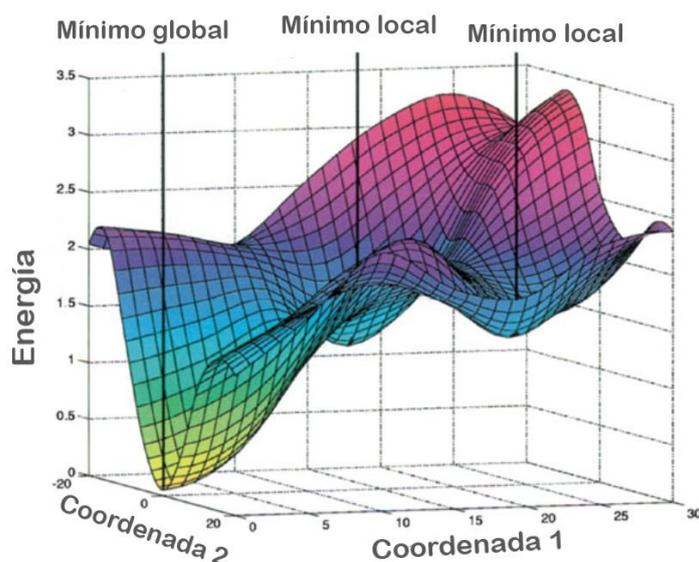


Figura 8: Representación habitual de una superficie de energía potencial.

5.1.2. CAMPOS DE FUERZAS

Los métodos de mecánica molecular (MM, *molecular mechanics*) calculan la energía mecánica involucrada en la deformación de las moléculas. Los átomos en este modelo se consideran masas esféricas y los enlaces que los unen como tensores. Para describir las interacciones entre las masas se utilizan funciones de potencial derivadas de la mecánica clásica. La expresión de la energía potencial de cada geometría es la suma de la tensión de enlaces, torsión alrededor de los enlaces simples y ángulos de flexión, y las fuerzas intermoleculares como los enlaces de hidrógeno o de van der Waals. Es obvio que este tipo de método no proporcionará valores de la energía precisos, pero es perfectamente válido para una primera búsqueda conformacional, especialmente para moléculas de gran tamaño como en el caso de este trabajo. Además, el coste computacional que supone es menor que el de otros métodos. De esta manera es posible evaluar la energía de los puntos de la superficie de energía potencial en un tiempo reducido.³⁴

Para comenzar, la información necesaria que se requiere es la estructura de la molécula, o de forma más específica, las posiciones relativas de los átomos que la componen en el espacio, así como una

serie de datos tales como las constantes de fuerza k de los distintos enlaces, ángulos de giro y torsiones que no pueden producirse, como por ejemplo en los dobles enlaces. Las constantes se encuentran en la base de datos del programa utilizado y han sido obtenidas experimentalmente o mediante cálculos *ab initio*. Esta base de datos de compuestos empleada durante la parametrización es fundamental para una búsqueda conformacional correcta, así como para modelar otras propiedades. El conjunto de parámetros obtenidos empíricamente para describir las interacciones entre átomos y las funciones de potencial utilizadas forman el campo de fuerzas (FF, *force field*) en el que se basan este tipo de métodos.

Existen varios campos de fuerzas que pueden utilizarse, cada uno con sus propias características. Por ejemplo, la familia MM, son ampliamente utilizados para cálculos computacionales de moléculas pequeñas, existiendo distintas variaciones dentro de este tipo que se designan con números (por ejemplo, MM2, MM3...). Los denominados AMBER (*Assisted Model Building and Energy Refinement*), son muy utilizados para el estudio de algunos sistemas orgánicos, proteínas y ácidos nucleicos. En el caso de los CHARMM (*Chemistry at Harvard Macromolecular Mechanics*), se trata de campos de fuerzas parametrizados con datos experimentales y utilizados tanto para moléculas pequeñas como para complejos solvatados de macromoléculas biológicas. Uno de los campos de fuerza más extendidos debido a su gran reproducibilidad en sistemas con varios grupos funcionales es el MMFFs (*Merck Molecular Force Field*). Este último es el que se ha elegido para realizar este trabajo, por lo que se describe con más detalle a continuación.³⁴

5.1.2.1. MERCK MOLECULAR FORCE FIELD

El campo de fuerzas MMFF (*Merck Molecular Force Field*) está diseñado para su uso en compuestos farmacéuticos y considera de forma precisa las energías conformacionales y las interacciones no enlazantes. Es adecuado para estudiar moléculas tanto en fase gas como en fases condensadas. Posee un gran número de términos cruzados, lo que es la razón principal de su gran transferibilidad, es decir, las propiedades calculadas no diferirán en gran medida al cambiar las condiciones en las que se encuentre la molécula.^{34,35}

En este caso se calcula la energía como la suma de las siguientes contribuciones.

- Tensión de enlaces: Se utiliza la ley de Hooke a la que se le añaden términos adicionales del desarrollo en serie de Taylor.

$$E_{enlace} = k_{enlace} (r_{ij} - r_{ij,eq})^2 \left[1 + cs(r_{ij} - r_{ij,eq}) + \frac{7}{12} cs^2 (r_{ij} - r_{ij,eq})^2 \right] \quad (1)$$

donde K_{enlace} , es la constante de fuerza, r_{ij} , es la distancia entre átomos, $r_{ij,eq}$ es la distancia de equilibrio entre los átomos, y cs es la constante de estiramiento cúbica.

- Deformación de ángulos de valencia: Se utiliza una función análoga a la del caso anterior en la que se sustituyen las distancias de enlace por ángulos entre enlaces.

$$E_{\text{ángulo}} = K_{\theta}(\theta_{ijk} - \theta_{ijk,eq})^2 [1 + cb(\theta_{ijk} - \theta_{ijk,eq})] \quad (2)$$

donde K_{θ} es la constante de fuerza, θ_{ijk} es el ángulo de enlace entre los átomos i , j , y k , $\theta_{ijk,eq}$ es el ángulo de equilibrio, y cb es la constante cúbica de doblado.

Para ángulos próximos a la linealidad se tiene la siguiente aproximación:

$$E_{\text{ángulo,lineal}} = K_{ijk,lineal} (1 + \cos \theta_{ijk}) \quad (3)$$

- Tensión-Doblado.

$$E_{\text{estiramiento-doblado}} = [k_{ijk} (r_{ij} - r_{ij,eq}) + k_{kji} (r_{ij} - r_{ij,eq})] (\theta_{ijk} - \theta_{ijk,eq}) \quad (4)$$

donde k_{ijk} y k_{kji} son las constantes de fuerza que unen los estiramientos ij y kj al ángulo ijk .

- Doblado fuera del plano (OOP, *Out of plane*).

$$E_{OOP} = k_{oop} (\chi_{ijk;l})^2 \quad (5)$$

donde el término $\chi_{ijk;l}$ es el ángulo entre el enlace jl y el plano ijk , en el que j es el átomo central.

- Torsiones: Debido a que la torsión es un movimiento periódico (circular), la función que la describe también lo es.

$$E_{\text{torsión}} = \frac{1}{2} [V_1(1 + \cos \phi) + V_2(1 + \cos 2\phi) + V_3(1 + \cos 3\phi)] \quad (6)$$

donde los términos V son constantes de fuerza de la serie de Fourier y ϕ es el ángulo diedro.

- Interacciones de Van der Waals: Surge de las interacciones entre las nubes electrónicas de dos átomos no enlazados.

$$E_{VdW} = \epsilon_{ij} \left(\frac{1.07 R_{ij}^*}{R_{ij} + 0.07 R_{ij}^*} \right)^7 \left(\frac{1.12 R_{ij}^{*7}}{R_{ij}^7 + 0.07 R_{ij}^{*7}} - 2 \right) \quad (7)$$

donde R_{ij} es la distancia entre los átomos i y j , R_{ij}^* es la distancia cuya energía de interacción entre átomos es mínima y ϵ_{ij} es la profundidad del pozo de energía potencial entre átomos.

- Interacciones electrostáticas: Describen la interacción coulombica entre átomos con cargas parciales.

$$E_{ij} = \frac{q_i q_j}{D(R_{ij} + \delta)^n} \quad (8)$$

donde D es la constante dieléctrica, δ es la constante dieléctrica de amortiguación, y los términos q las cargas de los respectivos átomos.

- Términos cruzados y términos no enlazantes adicionales: Describen el acoplamiento entre enlaces, ángulos y torsiones por lo que los funcionales que los describen son combinaciones de los funcionales para los términos por separado. Sus expresiones son más complejas.
- Estrategias de parametrización: Son funciones que miden de la desviación entre los valores de energía predichos y los valores experimentales. La elección de estas funciones es arbitraria.

5.2. MÉTODOS MECANOCUÁNTICOS

Los métodos de la mecánica cuántica se basan en la resolución de la ecuación de Schrödinger, la cual sólo puede resolverse de manera exacta en el caso en el que se tenga un sistema monoeléctrico. Debido a que en sistemas de más de un electrón las partículas no se mueven de forma independiente, si no que existe correlación electrónica, deben considerarse varias aproximaciones para resolver la ecuación de Schrödinger.³⁴

Las aproximaciones consisten en:

- Aproximación de Born-Oppenheimer: Se basa en que la masa de los núcleos es mucho mayor que la de los electrones, por eso, los electrones se mueven a mayores velocidades respondiendo instantáneamente a los cambios producidos en la molécula. Con esta aproximación es posible suprimir los términos nucleares considerándolos constantes al calcular las derivadas, y parametrizar el término de atracción electrónica entre núcleos y electrones.
- Modelo Hartree-Fock: La mayor parte de los métodos mecanocuánticos utilizan el cálculo Hartree-Fock como base. La metodología empleada consiste en resolver el Hamiltoniano con un solo determinante de Slater. Estos cálculos se fundamentan en el método de Hartree, que aplica la aproximación de la partícula independiente para los electrones, de manera que permite dividir el operador Hamiltoniano en operadores individuales para cada electrón. Aplicando la aproximación de la partícula independiente, el término de un electrón se considera independiente del resto. De esta forma se puede considerar que un electrón se mueve en el campo de energía potencial promedio formado por el resto. Es una modificación en la que se describe la función de onda de varios electrones como un producto antisimetrizado (determinante de Slater) de funciones de onda de un electrón.

- El comportamiento de los orbitales moleculares se aproxima al resultado de la combinación lineal de los orbitales atómicos que lo forman. De esta forma, los electrones se pueden considerar independientes asumiendo que cada uno estará en un orbital diferente. Así, la función de onda del sistema se puede escribir como el producto de las funciones de onda de cada partícula.
- Aproximación de la separación de orbitales π : Consiste en la separación de las contribuciones σ y π a un enlace, de forma que permite caracterizar la contribución π .

5.2.1. MÉTODOS BASADOS EN LA FUNCIÓN DE ONDA

Tras plantear la ecuación de Schrödinger y aplicar la aproximación de Born-Oppenheimer, se divide el Hamiltoniano electrónico en distintos términos, de los cuales, el correspondiente a la repulsión interelectrónica no tiene solución exacta. Se emplea entonces el modelo de Hartree-Fock. El concepto fundamental en el que se basa la teoría Hartree-Fock (HF) consiste en que cada electrón percibe al resto como un campo promedio, lo que permite un enorme progreso en la realización de los cálculos de orbitales moleculares. Según el teorema variacional, la energía calculada resulta siempre mayor que la auténtica energía que posee el sistema, por lo que debe procurarse minimizar el resultado para cometer el menor error posible. Para ello se plantea el determinante secular cuya resolución puede realizarse por distintos métodos.³³

Los métodos post-HF realizan el cálculo de la energía de correlación. De nuevo, se encuentran distintas metodologías como variacionales, perturbativos y de agregados acoplados. Para este trabajo se ha empleado el método MP2 que detallaremos a continuación.³⁶

5.2.1.1. MÉTODOS PERTURBATIVOS MOLLER-PLESSET

La teoría de perturbaciones de varios cuerpos (MBPT, *many-body perturbation theory*) trata la correlación electrónica como una perturbación en la función de onda de HF. Se comienza considerando el operador Hamiltoniano \hat{H} no perturbado y al que se le añade posteriormente una pequeña perturbación \hat{V} que representa una pequeña modificación en el sistema. El operador Hamiltoniano en este caso vendría dado por la expresión (9).

$$\hat{H} = \hat{H}_0 + \lambda \hat{V} \quad (9)$$

donde \hat{H}_0 es el Hamiltoniano anterior a la introducción de la perturbación que se resuelve de forma exacta o aproximada, λ es el parámetro de perturbación que mide la magnitud de la perturbación, y \hat{V} es el operador de perturbación.

Se asume que el factor de corrección es pequeño comparado con el Hamiltoniano inicial por lo que la función de onda modificada y energía pueden expresarse en forma de la expresión de Taylor en función del parámetro de perturbación.³⁴

$$E^n = E_0^n + \lambda E_1^n + \lambda^2 E_2^n + \dots \quad (10)$$

$$\Psi^n = \Psi_0^n + \lambda \Psi_1^n + \lambda^2 \Psi_2^n + \dots \quad (11)$$

5.2.2. MÉTODOS SEMIEMPÍRICOS

Los métodos semiempíricos modifican los cálculos Hartree-Fock introduciendo funciones con parámetros obtenidos experimentalmente, que mejoran la calidad del cálculo computacional. Se basan en tres aproximaciones principales.³⁴

- Despreciar la contribución de los electrones internos: Dado que no contribuyen a la actividad química, suelen reemplazarse sus contribuciones al Hamiltoniano por una función parametrizada.
- Uso de un conjunto de base mínimo: Las funciones utilizadas para describir los electrones de valencia emplean un número mínimo de funciones base.
- Supresión o uso de aproximaciones para las integrales de dos electrones: Los métodos actuales poseen la aproximación *modified neglect of differential overlap* (MNDO). En este método, los parámetros se asignan para los distintos átomos y se encajan para reproducir propiedades como los calores de formación, variables geométricas, momentos dipolares y primeras energías de ionización.

5.2.2.1. PARAMETRIC MODEL 6

Existen múltiples modelos como el AM1, PM1, PM3... que van mejorando sucesivamente la parte MNDO. El método semiempírico que se utilizará en este trabajo es el *parametric model 6* (PM6), que emplea un conjunto de datos mucho mayor para ajustar los parámetros e introduce mejoras en los términos núcleo-núcleo. Las correcciones que aplica se basan en introducir parámetros de pares de núcleos en lugar de parámetros específicos de un elemento, así como diferentes potenciales de repulsión internuclear para N-H, O-H, C-C y Si-O. También añade orbitales d para algunos elementos de forma similar al método MNDO/d.³⁷

5.2.3. TEORÍA DEL FUNCIONAL DE LA DENSIDAD (DFT).

El método de la teoría del funcional de la densidad se basa en que la energía total del estado fundamental de un sistema con N electrones se puede describir mediante un funcional de densidad electrónica.

Los métodos actuales están basados en dos teoremas de Hohenberg y Kohn. El primero de ellos enuncia que cada observable de un sistema mecano-cuántico estacionario, incluyendo la energía, puede ser calculado a partir de la densidad electrónica del estado fundamental únicamente. El segundo afirma que la densidad electrónica del estado fundamental es aquella que minimiza el funcional de la energía, es decir, al igual que con la teoría de orbitales moleculares (MO, *molecular orbitals*) la densidad electrónica cumple el principio variacional.^{34,38}

Sin embargo, los teoremas de Hohenberg y Kohn no proporcionan una expresión para el funcional de la energía y la utilidad de los cálculos DFT depende del uso de aproximaciones adecuadas. Para ello, el funcional se describe como la energía total según la expresión de Hartree añadiendo un término adicional, el de intercambio-correlación. Ésta es la expresión de Kohn-Sham (12) que consta de varios términos, todos ellos funcionales de la densidad electrónica, que comprenden el sumatorio de las interacciones de las distintas partículas dentro de la molécula.

$$E[\rho] = T_s[\rho] + E^H[\rho] + E_{en}[\rho] + E_{nn}[\rho] + E_{xc}[\rho] \quad (12)$$

donde $T_s[\rho]$ es la energía cinética de los electrones sin interacción entre ellos, $E^H[\rho]$ es la energía de Hartree, $E_{en}[\rho]$ la energía de interacción electrón-núcleo, $E_{nn}[\rho]$ la energía de interacción núcleo-núcleo y $E_{xc}[\rho]$ el funcional de intercambio-correlación.³⁹

Existen varios tipos de funcionales de intercambio-correlación que sirven como aproximaciones detallando en mejor o peor medida la forma de la densidad electrónica. Se pueden clasificar de la siguiente manera:

- LDA (*Local Density Aproximation*): Es el más sencillo de todos, se calcula el valor del funcional de intercambio-correlación en un punto r como el valor de la densidad electrónica ρ en dicha posición. Sería equivalente a tener un gas de electrones libres en esa densidad. Para los sistemas que incluyan polarización de spin se utiliza el funcional LSDA (*Local Spin Density Aproximation*). Tiene una expresión como la siguiente, (13).

$$E_{xc}[\rho] = \int d^3r \rho(r) \epsilon_{xc}(\rho(r)) \quad (13)$$

- GGA (Generalized Gradient Approximation): Esta aproximación se basa en la anterior que sólo tiene en cuenta los valores locales de la densidad electrónica, y añade el cambio local de la misma, es decir, su gradiente.

$$E_{x/c}^{GGA}[\rho(r)] = E_{x/c}^{LSDA}[\rho(r)] + \Delta \epsilon_{x/c} \left[\frac{|\nabla\rho(r)|}{\rho^{4/3}(r)} \right] \quad (14)$$

- Meta-GGA: Una de las deficiencias de los funcionales GGA es su incapacidad para describir correctamente el comportamiento de la densidad de energía y el potencial de intercambio simultáneamente en regiones alejadas del núcleo para obtener una mejora. Estos funcionales añaden a los anteriores la segunda derivada de la densidad electrónica aplicando el operador Laplaciano a la expresión. Un ejemplo de estos funcionales son los de tipo M06.
- DFT Híbridos: Dado que un funcional puro muestra poca contribución de spin, se añaden contribuciones del funcional de intercambio proporcionado por la función de onda de Hartree-Fock.

Los funcionales que se van a utilizar son de tipo GGA híbrido B3LYP e híbrido meta-GGA M06-2X.^{36,40}

5.2.3.1. FUNCIONAL B3LYP

Son métodos híbridos que combinan funcionales para la correlación y para el intercambio. En este caso concreto, se tiene el funcional de intercambio de Becke (B) que añade tres parámetros a la expresión y el de correlación no local de Lee, Yang y Parr (LYP), que a diferencia de otros, no es una corrección del funcional LSDA (*Local Spin Density Approximation*), sino que está diseñado para proporcionar la energía de correlación por sí mismo.⁴¹

5.2.3.2. FUNCIONAL M062X

Como se ha mencionado antes, el funcional M062X se puede clasificar como un funcional híbrido de tipo meta GGA (*hybrid meta-GGA*). Tienen muy en cuenta el cambio del valor de la densidad electrónica en la molécula y además duplica el intercambio no local (2X). Se ha parametrizado para no metales, por lo que se recomienda para el estudio de interacciones no covalentes.

5.2.3.3. DISPERSIONES DE GRIMME Y DE BECKE JOHNSON

La **dispersión de Grimme** es una modificación realizada a la teoría del funcional de la densidad de Kohn-Sham, que proporciona mayor precisión, mayor rango de aplicación y menor empirismo. Las principales modificaciones respecto de los métodos anteriores son los coeficientes de dispersión específicos para pares de átomos y radios de corte, ambos computados por primeros principios. La principal desventaja es que la corrección no es dependiente o no afecta a la estructura electrónica.

Es válido para complejos de Van der Waals e interacciones intramoleculares que suelen tener lugar en problemas conformacionales. ⁴²

Sus principales propiedades y ventajas son las siguientes:

- Es menos empírico, los parámetros principales se obtienen de primeros principios.
- Proporciona la energía de dispersión casi exacta para átomos con interacciones débiles.
- Proporciona una descripción consistente para todos los elementos químicamente relevantes.
- Los coeficientes de dispersión de pares de átomos y radios de corte se computan explícitamente.
- Los coeficientes de dispersión dependientes del índice de coordinación (geometría) no dependen de la conectividad de los átomos. Es el factor que más contribuye a la mejora de la exactitud. Los coeficientes se calculan con métodos *ab initio* de gran precisión.
- Proporciona similar o mejor exactitud para moléculas ligeras y una mejora importante para sistemas metálicos.

Becke-Johnson (BJ): A fin de mejorar las interacciones no covalentes, este modelo genera coeficientes de dispersión C6 interatómicos e intermoleculares notablemente precisos, así como geometrías y energías de enlace de complejos. El modelo DFT opera tan bien como el modelo explícitamente dependiente de los orbitales moleculares, pero con mejoras computacionales evidentes. Con las dispersiones BJ se encuentran mejores resultados y efectos de dispersión intramoleculares más claros, se trata de un método más preciso especialmente para problemas de correlación electrónica de medio alcance. ^{43,44}

$$E_{disp} = - \sum_{ij} \frac{C_{6\ i,j}}{\left(k \frac{C_{6\ i,j}}{E_{C\ i,j}}\right) + R_{i,j}^6} \quad (15)$$

donde $E_{C\ i,j}$ es la suma de los valores absolutos de las energías de correlación de los átomos i y j libres, k es un parámetro universal que limita la energía de dispersión de cada par i,j . $R_{i,j}$ es la distancia entre los átomos.

5.2.4. BASES DE CÁLCULO

La resolución de la ecuación de Schrödinger electrónica requiere un conjunto de funciones de base, que pueden ser la función de onda o el funcional de la densidad electrónica, para definir los orbitales moleculares. Así pues, para realizar estos cálculos se necesita una expresión de la función de los orbitales moleculares ϕ como se muestra en la ecuación (16), que se describe como una combinación lineal de los orbitales atómicos χ .

$$\phi = \sum C_i \chi_i \quad (16)$$

A su vez, los orbitales atómicos pueden expresarse como se muestra en la ecuación (17), donde N es el coeficiente de normalización, $Y(\theta, \gamma)$ es la parte angular que suele describirse con armónicos esféricos y $R(r)$ la parte radial.

$$\chi = N Y(\theta, \gamma) R(r) \quad (17)$$

Por su parte, $R(r)$ puede describirse con funciones de tipo Slater (STO, *Slater type orbitals*) o con funciones gaussianas (GTO, *Gaussian type orbital*). En este trabajo se van a utilizar bases de Pople, que emplean las funciones de tipo GTO, que tienen la expresión formulada en la ecuación (18).

$$R(r) = r^{(2n-2-l)} e^{-\zeta r^2} \quad (18)$$

Utilizando únicamente las funciones GTO como tales sería necesario un gran número de ellas, por lo que se recurre a la contracción de funciones en las que se combinan distintas funciones gaussianas, ecuación (19), que den lugar a una nueva del mismo tipo, pero con distinta forma, como se muestra en la Figura 9.

$$R(r) = \sum_j C_j e^{-\zeta_j r^2} \quad (19)$$

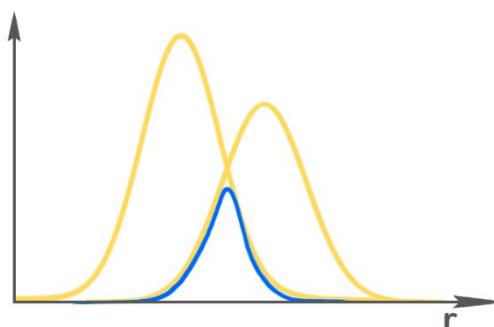


Figura 9: Ejemplo de contracción de funciones Gaussianas. Al sumar dos funciones Gaussianas, se obtiene una nueva centrada en ambas.

Existen bases mínimas, en las que únicamente se utiliza una función base para los orbitales internos y los de valencia. Por otra parte, existen las bases de valencia desdoblada (múltiple zeta) en las que se representa por una parte los orbitales internos con una función base que es contracción de distintas funciones gaussianas y por otra los de valencia con varias funciones.⁴⁵

Para nombrar las distintas bases de Pople se utiliza una serie de caracteres, donde cada uno posee un significado. Por ejemplo, la base más completa que se va a utilizar en este trabajo es la siguiente:

$$6-311++G(d,p)$$

Donde el primer número indica que la base mínima es una función combinación de seis gaussianas a fin de simular los orbitales internos.

El guion separa las bases empleadas para los orbitales de valencia, que en este caso utiliza una función triple zeta (311) que consta de la contracción de tres gaussianas (indicado por el número 3) y añade dos gaussianas primitivas por separado (indicado por los dos números 1).

A continuación, se añaden las funciones difusas representadas por signos "+". El primero de ellos simboliza la combinación con funciones difusas para los átomos pesados (del segundo periodo en adelante), mientras que el segundo indica su inclusión para el átomo de hidrógeno. Estas funciones tienen el mismo número cuántico angular que los orbitales de valencia, pero con exponentes más pequeños, es decir, menos contraídos. Gracias a ello, se pueden extender a regiones espaciales más alejadas de los núcleos, como se puede visualizar en la Figura 10.



Figura 10: Efecto de las funciones difusas. λ es un factor que multiplica a la función difusa.

Por último, se introducen las funciones de polarización. Éstas consisten en combinar los orbitales a calcular con orbitales de un número cuántico angular mayor para crear un efecto de cambio en la densidad electrónica, mediante la multiplicación de un factor λ , cuyo valor está comprendido entre 0 y 1, como se muestra en la Figura 11. Por ejemplo, los orbitales atómicos tipo p de los átomos pesados se combinan con funciones que describen orbitales tipo d (denotado con la letra d entre paréntesis), y de forma análoga los orbitales de tipo s de los hidrógenos (o helio) se combinan con los de tipo p . Esta combinación sirve para aumentar la "flexibilidad" de las funciones base en la región de valencia con el fin de describir mejor la distorsión de los orbitales atómicos cuando la densidad de carga está deformada por la interacción de unos átomos con otros.³³



Figura 11: Efecto de las funciones de polarización.

La elección de una buena base es un factor fundamental en el que los parámetros que definen los funcionales empíricos de intercambio-correlación dependen cuantitativamente de los conjuntos de base empleados. Además de las bases de Pople, existen otros tipos como las de correlación consistente o Dunning. Éstas son parametrizadas con correlación y son preferibles para cálculos post-HF (MP2, CCSD...), en cambio, las de Pople se parametrizan para HF y se emplean en este tipo de cálculos con el beneficio de ser de menor tamaño que las de Dunning. Los cálculos DFT muestran poca diferencia en el uso de las bases de un tipo u otro, sin embargo, la mayor rapidez de las bases de Pople las hace preferibles. Así mismo existen las bases de tipo Def2, de aplicabilidad más general que las anteriores y cuya utilización se encuentra en auge recientemente, por lo que también se tendrán en cuenta para la comparativa.^{36,46}

5.3. ESPECTROSCOPIA DE ROTACIÓN

Con el objetivo de conocer qué datos serán necesarios extraer del estudio computacional, es fundamental describir, al menos brevemente, en qué consiste la espectroscopía de rotación y de qué depende la obtención del espectro de la molécula. Por esta razón, se explica a continuación en qué consiste este tipo de espectroscopía, así como las reglas de selección y la dependencia de las constantes de rotación. Debido a que la labor experimental se haría en una expansión supersónica, otro dato a tener en cuenta es la energía relativa de los conformeros, ya que dará información sobre cuáles de ellos se encontrarán en mayor proporción. Así mismo, la energía de Gibbs es otro factor determinante en algunos casos.

5.3.1. FUNDAMENTOS

Las señales que se observan en un espectro rotacional se deben a la absorción o emisión de energía por parte de las moléculas al cambiar su nivel de energía de rotación. Los valores propios correspondientes vienen dados por la combinación lineal de las constantes rotacionales A , B y C , cuya expresión viene dada por la ecuación (20), inversamente proporcionales a los momentos de inercia I_a , I_b e I_c , cuya expresión se indica en (21), respectivamente.

$$B = \frac{h}{8\pi^2 I_B} \quad (20)$$

donde h es la constante de Plank e I es el momento de inercia en el eje B. La fórmula es análoga para las constantes rotacionales A y C.

$$I_{A,B,C} = \sum m_i r_i^2 \quad (21)$$

donde m_i es la masa de cada átomo y r la distancia desde el átomo considerado al eje correspondiente.

Al depender de la distribución espacial de las masas, estos parámetros son específicos de cada estructura, y permiten realizar una predicción de las transiciones rotacionales que van a tener lugar e identificar los confórmeros analizados.

Por otro lado, la intensidad de las transiciones se relaciona con la proyección del momento dipolar de la molécula a lo largo de los ejes, μ_a , μ_b y μ_c . De forma más concreta, la intensidad de la transición es proporcional a la integral momento de transición $\langle \psi_1 | \mu_{a,b,c} | \psi_2 \rangle$, donde ψ_1 y ψ_2 es la función de onda de los estados inicial y final respectivamente.⁴⁷

El requisito más importante para que una molécula pueda proporcionar un espectro de rotación es la existencia de momento dipolar permanente. Sin embargo, no todas las transiciones están permitidas, sólo aquellas que siguen las reglas de selección que se cumplen cuando el producto directo de la representación irreducible simétrica de los elementos de la integral momento de transición, contiene la representación totalmente simétrica. Las reglas de selección pueden describirse por la variación en los números cuánticos del momento angular, J, y la proyección del momento angular sobre el eje z de la molécula, K.⁴⁸

$\Delta J = -1, 0, 1$: Proporciona las ramas P, Q y R.

- Las transiciones de tipo *a* poseen las siguientes reglas de selección: $\Delta K_a = 0$; $\Delta K_c = \pm 1$.
- Las de tipo *b*: $\Delta K_a = \pm 1$; $\Delta K_c = \pm 1$.
- Y las de tipo *c*: $\Delta K_a = \pm 1$; $\Delta K_c = 0$.

De esta forma, las transiciones de cada tipo dependen de la proyección del momento dipolar a lo largo del eje que les corresponde.

En resumen, la intensidad de las transiciones y si estas son de tipo *a*, *b* o *c*, proporcionan información sobre las componentes del momento dipolar de la estructura molecular, siendo de gran utilidad a la hora de identificar confórmeros.

5.3.2. EXPANSIÓN SUPERSÓNICA Y ABLACIÓN LÁSER

El estudio conformacional de una molécula debe realizarse en un entorno en el que no existan interacciones con el entorno para que no influyan a las conformaciones intrínsecas del sistema que se pretende estudiar, por lo que debe realizarse en condiciones de aislamiento. Para lograr estas condiciones, se dispone de aparatos que permiten introducir la muestra a través de un jet supersónico. Se trata de la expansión adiabática de un gas portador que contiene una pequeña proporción de la muestra a elevada presión en un recinto de alto vacío al pasar por un pequeño orificio llamado Nozzle, cuya constitución puede verse en la Figura 12 ⁴⁷, produciéndose su expansión supersónica. Las moléculas de muestra sufren un fuerte enfriamiento de los grados de libertad rotacionales, vibracionales y traslacionales.

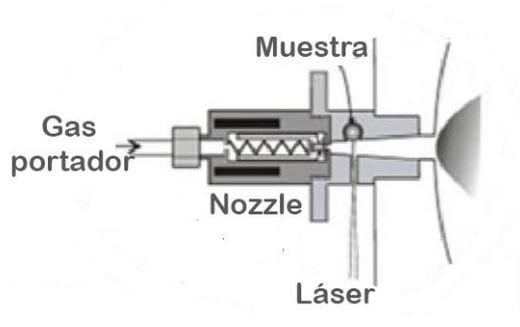


Figura 12: Introducción de la muestra a la cámara de expansión.

Gracias a estas características se consiguen una serie de ventajas tales como una mayor población del nivel fundamental que aumenta la intensidad de las transiciones, el espectro se simplifica y se adquieren las condiciones ideales para formar complejos moleculares. Otro efecto es un gran aumento de la velocidad (alcanza velocidades supersónicas) y la direccionalidad de la misma. Una vez lograda la expansión supersónica se crea una zona libre de colisiones en la que el entorno en el que se encuentran las moléculas es el propicio para este tipo de espectroscopía. Las distintas regiones creadas en un chorro supersónico pueden verse en la Figura 13 ⁴⁹.

La volatilización de algunas muestras sin producir su deterioro es difícil en algunos casos, como el de los compuestos biológicos que se descomponen al aplicar calor. Por esta razón, se recurre a la ablación láser que permite volatilizar parte de las moléculas neutras mediante pulsos de radiación sin deteriorarlas. ⁴⁷

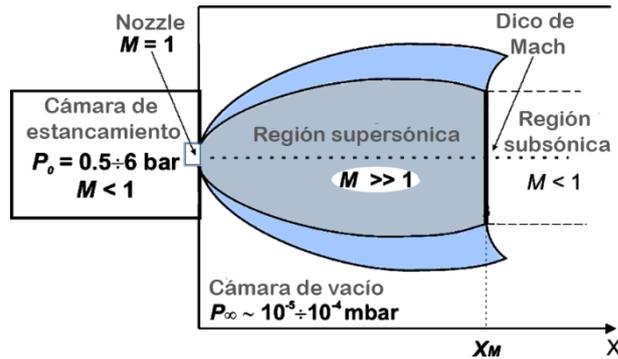


Figura 13: Formación y zonas del chorro supersónico.

5.3.3. ROTACIÓN INTERNA

La rotación interna es una vibración en la que el movimiento realizado por la molécula conecta varias disposiciones (n) equivalentes entre sí, siendo el ángulo de rotación interna (α) la coordenada que describe dicho movimiento. La función del potencial es simétrica y periódica con el ángulo α , siendo el máximo de potencial la barrera que impide el movimiento. Sin embargo, en los casos en los que la barrera es baja, el sistema puede pasar de un mínimo a otro por medio del efecto túnel. Este suceso causa que los niveles cercanos a la barrera se dividan en n componentes.

Un caso concreto que va a aplicarse en este trabajo es la rotación de los grupos metilo. En este caso da lugar a una función de energía potencial en tres partes, con tres mínimos equivalentes y tres máximos equivalentes. Si la barrera de potencial es suficientemente pequeña, dicha rotación puede dar lugar a desdoblamiento hiperfino en el espectro de rotación, dependiendo de la magnitud de la barrera de rotación interna. En esos casos, los niveles rotacionales se dividirán en un nivel no degenerado de componente A y un nivel doblemente degenerado de componente E, como se observa en la Figura 14⁵⁰. Entonces, cada transición rotacional aparece desdoblada en dos componentes. Como resultado de la presencia de rotación interna, el espectro obtenido se complica haciendo más compleja su resolución.^{51,52}

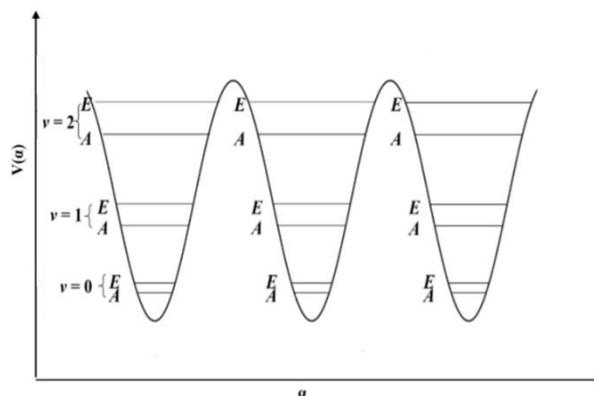


Figura 14: Función del potencial proporcionado por la rotación interna de un grupo metilo al cambiar el ángulo α .

6. RESULTADOS

6.1. BÚSQUEDA CONFORMACIONAL

En este trabajo se ha estudiado la molécula de hernandulcina, cuya fórmula molecular es $C_{15}H_{24}O_2$, y que posee en su estructura 41 átomos en total. Tal y como se muestra en la Figura 15, se trata de una estructura grande y con numerosos enlaces simples, por lo que cabe esperar que adopte una gran cantidad de conformeros. Por esta razón, primero se recurre a los métodos de mecánica molecular para dilucidar las estructuras que poseerá la molécula, para posteriormente optimizarlas mediante distintos métodos. Su tamaño y flexibilidad le dotan de una importante complejidad desde el punto de vista espectroscópico y computacional. Por ello, con este estudio se pretende obtener una información básica que después podrá utilizarse para valorar la viabilidad de la molécula, conocer sus interacciones intramoleculares y así tener un punto de partida en el caso de realizar su estudio experimental. También será de ayuda en el caso de hacerse estudios posteriores como por ejemplo, los agregados moleculares del compuesto con agua o moléculas claves en el receptor del dulzor.

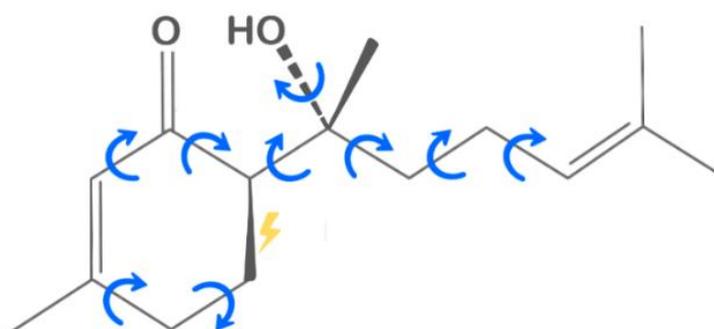


Figura 15: Posibles torsiones que pueden efectuarse en la estructura de la hernandulcina.

Se comienza construyendo la estructura de la molécula con el programa Maestro de Schrödinger⁵³, en el que se pueden visualizar todas las posibles torsiones de la molécula como se indica en la Figura 15. Los indicadores azules representan giros a través de un enlace y en amarillo se indica la rotura de un enlace con el fin de modificar la estructura del ciclo. Seguidamente se procede a lanzar un cálculo de mecánica molecular empleando el campo de fuerzas de Merck (MMFF) y se establece un umbral de energía de 25 KJ/mol por encima del cual no se consideren nuevas estructuras. Una vez terminada la búsqueda conformacional se obtienen 109 conformeros, cada uno de ellos descrito en un fichero que proporciona las coordenadas de los átomos, parámetros energéticos y otras propiedades de cada conformero.

Posteriormente, se optimizan las estructuras de los conformeros obtenidos con un nivel de cálculo DFT, utilizando el funcional B3LYP y una base extendida, 6-311++G(d,p), añadiendo las dispersiones de Grimme y Becke Johnson. Este cálculo se realiza con el software Gaussian 16⁵⁴. Al comprobar los

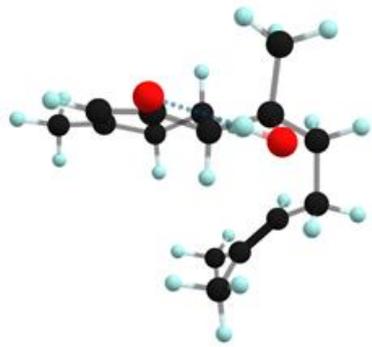
parámetros de todas las estructuras, se observa que las energías y las constantes de rotación A , B y C coinciden en algunas estructuras. Este hecho indica que esos conformeros convergen a la misma estructura, por lo que realmente se obtienen 81 estructuras diferentes de las 109 iniciales.

Tabla 1: Parámetros espectroscópicos calculados y energías relativas a nivel B3LYP/6-311++G(d,p) GD3BJ, correspondientes a los 10 conformeros más estables de la hernandulcina. Los dos conformeros menos estables se muestran a la derecha.

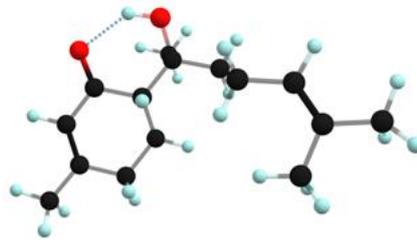
Conformero	5	1	66	6	4	14	3	57	102	11	91	96
A (MHz)	501	688	886	536	931	553	945	1157	636	523	598	941
B (MHz)	429	246	209	392	192	358	189	206	325	445	328	200
C (MHz)	290	196	186	263	177	290	170	193	286	322	278	191
μ_A (D)	1.56	0.81	2.35	-0.20	-2.80	2.92	2.17	3.89	2.06	-3.50	-0.04	2.69
μ_B (D)	4.19	5.29	4.38	5.06	4.51	2.82	5.02	3.41	3.53	1.16	-2.41	2.56
μ_C (D)	-2.72	-1.66	-1.24	-2.20	1.00	-3.46	-1.02	-1.08	-3.19	3.05	2.53	1.37
ΔE (cm ⁻¹)	0	531	551	459	861	807	894	936	1025	1053	2725	2816
ΔE_{ZPE} (cm ⁻¹)	0	470	489	491	776	779	798	906	1030	1045	2512	2586
ΔG (cm ⁻¹)	0	140	112	528	318	782	335	755	983	1068	2204	2002

A , B , y C representan las constantes rotacionales; μ_a , μ_b , y μ_c son los valores de las componentes del momento dipolar eléctrico (en Debyes). Por último, la energía electrónica relativa, ΔE , la energía relativa en el punto cero, ΔE_{ZPE} , y energías de Gibbs relativa (ΔG) calculadas a 298 K son relativas con respecto al mínimo global. Los valores han sido calculados mediante B3LYP/6-311++G(d,p) GD3BJ.

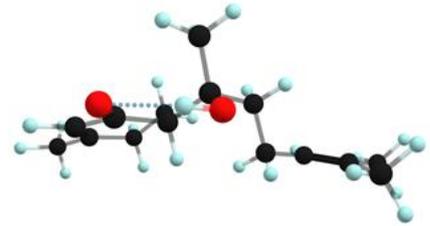
En la Figura 16 se muestran las estructuras de los diez conformeros más estables junto con los dos menos estables, mientras que en la Tabla 1 se recogen los datos de las constantes de rotación, momentos dipolares y energías relativas para dichas estructuras. Los datos del resto de los conformeros se encuentran en el anexo. La numeración de las estructuras sigue el proporcionado según el orden energético por el método de mecánica molecular. Como puede verse en la Figura 16, las estructuras más estables son aquellas que poseen un enlace de hidrógeno entre el grupo hidroxilo y el grupo cetona. Aquellas estructuras que no cuentan con dicho enlace, sufren de una desestabilización considerable, como es el caso de los conformeros 91 y 96.



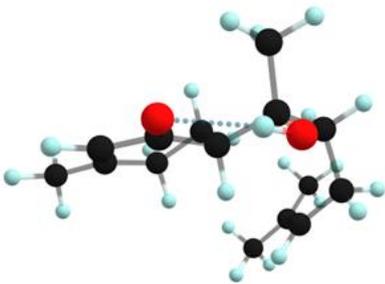
Confórmero 5



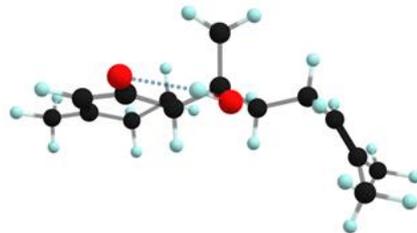
Confórmero 1



Confórmero 66



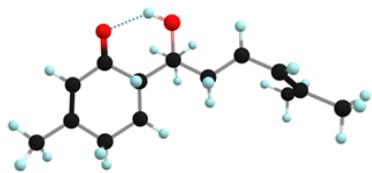
Confórmero 6



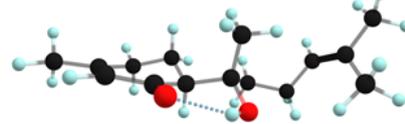
Confórmero 4



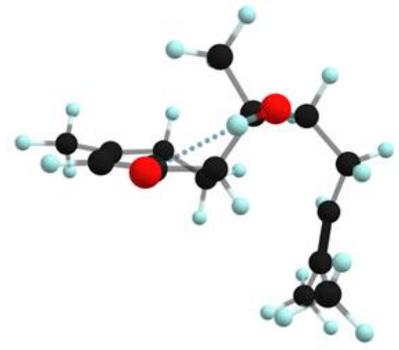
Confórmero 14



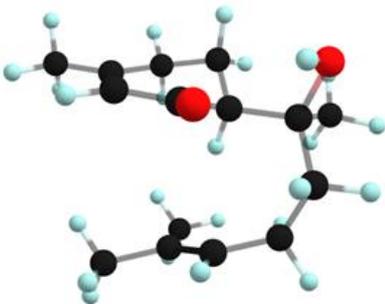
Confórmero 3



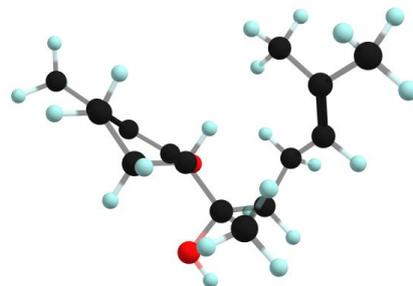
Confórmero 57



Confórmero 102



Confórmero 11



Confórmero 91



Confórmero 96

Figura 16: Los diez confórmeros de la hernandulcina más estables y los dos menos estables hallados con el método B3LYP/6-311++G(d,p) GD3BJ.

Entre las estructuras más estables es posible diferenciar dos grandes grupos: las estructuras que tienen la cadena carbonada plegada sobre el ciclo (confórmeros 5 y 6, por ejemplo) y aquellos cuya estructura se dispone de una forma más extendida (confórmeros 1 y 66, por ejemplo). La diferencia entre ambos grupos resulta muy interesante y, como se mencionará más adelante, dará lugar a diferencias entre los distintos métodos de cálculo. El grupo de estructuras de conformación plegada adopta esta configuración gracias a una estabilización debida a fuerzas dispersivas entre la cadena carbonada y el anillo. Por otro lado, las estructuras de conformación extendida son más complejas de evaluar, pero parece que su disposición se ve favorecida por una interacción muy débil de los hidrógenos con los oxígenos. La estabilidad final vendrá dada por un compromiso entre la estabilización por la suma de las fuerzas estabilizantes y las fuerzas repulsivas ejercidas por el impedimento estérico.

Para corroborar esta observación entre los distintos grupos, se realiza un NCI Plot (*Non-Covalent Interactions*) a las estructuras 5 y 66 por ser las más estables de cada grupo. El NCI Plot es un programa que permite visualizar e identificar las interacciones no covalentes. Los cálculos están basados en la densidad electrónica y sus derivadas (picos que aparecen en el gradiente de densidad reducido a bajas densidades). El análisis de las interacciones se muestra en la Figura 17, en la que puede verse cómo el confórmero 5 presenta unas fuerzas dispersivas entre la cadena carbonada y el anillo, mientras que el confórmero 66 no posee dichas fuerzas, lo que conlleva una estabilización adicional de la primera. De hecho, la estabilización es tal que la estructura 5 es 500 cm^{-1} más baja en energía que el siguiente confórmero más estable.

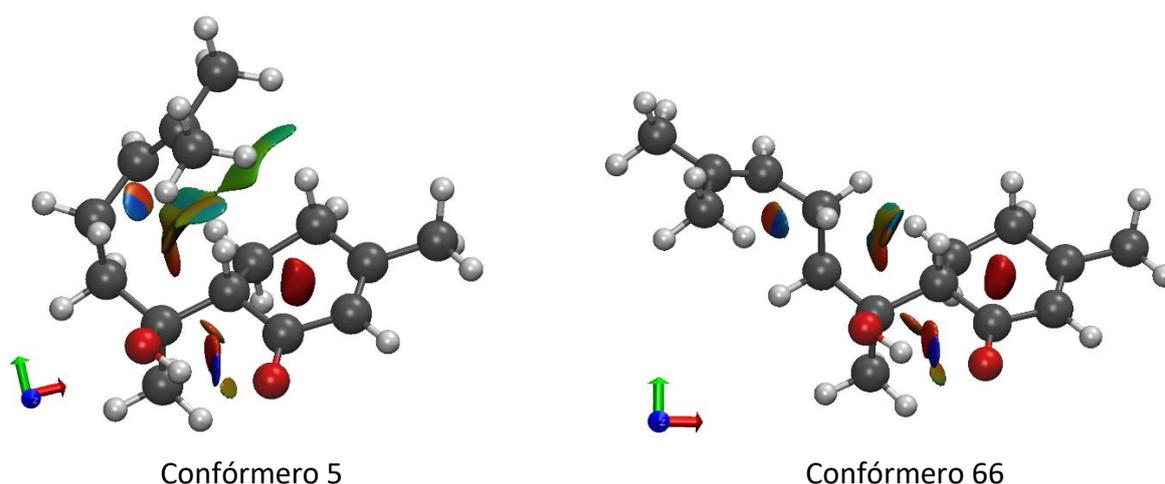


Figura 17: Confórmeros 5 y 66 de la hernandulcina junto con el análisis NCI Plot a color. Las superficies en azul corresponden a fuerzas atractivas, las repulsiones se muestran en rojo y en tonos verdes se representan las interacciones débiles.

6.1.1. COMPARATIVA DE BASES Y NIVELES DE CÁLCULO

El éxito de un modelo depende de su capacidad para reproducir consistentemente los datos experimentales, y no es probable que un único modelo teórico sea el ideal para describir todos los sistemas moleculares. Si bien todos estos modelos pueden ser aplicados habitualmente a moléculas de tamaño considerable, difieren en el tiempo de computación requerido y en la eficacia para reproducir un sistema. De forma que es de gran importancia saber qué modelos proporcionan mejores resultados en menores periodos de tiempo o en qué situaciones son necesarios los modelos de mayor coste computacional. Es difícil cuantificar el tiempo de computación total de un cálculo debido a que depende de varios factores. Para moléculas orgánicas de tamaño moderado (de unos 10 átomos diferentes de H), los modelos HF/6-31G(d), B3LYP/6-31G(d) y MP2/6-31G(d) es de esperar que exhiban tiempos de computación global en una proporción de aproximadamente 1:1.5:10. El tiempo de computación de Hartree-Fock y los modelos B3LYP y MP2 con bases mayores que 6-31G(d) aumentan aproximadamente con el cubo (HF y B3LYP) y la quinta potencia (MP2) del número total de funciones de base.³³

La hernandulcina se presenta como un caso muy didáctico de cara a ilustrar la necesidad de las distintas metodologías. Por un lado, es una molécula relativamente grande por lo que nos mostrará los problemas relacionados con el tiempo de cálculo y tamaño de archivo generado durante el cálculo. Por otro lado, dispone de dos grupos predominantes del cual uno de ellos presenta estructuras estabilizadas mediante fuerzas dispersivas de largo alcance difíciles de modelar. Por ello y con el fin de realizar una comparativa entre distintos métodos computacionales disponibles, se toman las 30 estructuras más estables de las totales optimizadas y se reoptimizan como sigue:

1) Con el nivel B3LYP aplicando distintas bases:

- | | |
|---------------------|-----------------------------|
| ○ B3LYP/6-31G(d) | ○ B3LYP/6-31+G(d,p) |
| ○ B3LYP/6-31G(d,p) | ○ B3LYP/6-31++G(d,p) |
| ○ B3LYP/6-311G(d) | ○ B3LYP/6-311++G(d) |
| ○ B3LYP/6-311G(d,p) | ○ B3LYP/6-311+G(d,p) |
| ○ B3LYP/6-31+G(d) | ○ B3LYP/6-311++G(d,p) GD3 |
| ○ B3LYP/6-31++G(d) | ○ B3LYP/6-311++G(d,p) GD3BJ |
| ○ B3LYP/6-311+G(d) | ○ B3LYP/Def2TZVP |

2) Con distintos niveles empleando la base 6-311++G(d,p) como referencia:

- M06-2X, correspondiente a metodología DFT.
- PM6, de tipo semiempírico.
- Método Hartree-Fock (HF).
- MP2, que utiliza metodología *ab initio* post-HF.

Una vez terminados los cálculos, con el fin de contrastar la información se crea un *script* con Wolfram Mathematica⁵⁵ para que automatice la tarea de extraer el tiempo de optimización promedio (tiempo dedicado a la optimización por cada número de pasos necesarios para optimizar y por CPU). Esta representación del tiempo requerido frente al nivel o base empleado se muestra en la Figura 18. Así mismo, la Figura 19 muestra una representación del tiempo necesario para el cálculo de frecuencias frente al nivel y base utilizado. Estos datos nos darán una idea estimada del coste computacional de cada método. Los resultados numéricos se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2: Datos obtenidos para el tiempo de cálculo de los distintos niveles de cálculo/base.

	t. opt/ h:min:s	t. frec/ h:min:s
PM6/6-311G++(d,p)	0:00:01	0:00:03
B3LYP/6-31G(d)	0:01:49	0:25:29
B3LYP/6-31G(d,p)	0:01:46	0:23:44
B3LYP/6-311G(d)	0:02:10	0:28:02
B3LYP/6-311G(d,p)	0:02:56	0:40:17
B3LYP/6-31+G(d)	0:04:12	0:51:36
B3LYP/6-31++G(d)	0:04:23	0:48:00
B3LYP/6-311+G(d)	0:05:11	0:56:26
B3LYP/6-31+G(d,p)	0:05:45	1:16:44
B3LYP/6-31++G(d,p)	0:05:58	1:12:10
B3LYP/6-311++G(d)	0:06:39	1:10:56
B3LYP/6-311+G(d,p)	0:07:33	1:28:27
HF/6-311++G(d,p)	0:06:19	1:03:19
B3LYP/6-311++G(d,p) GD3	0:11:42	2:35:47
B3LYP/6-311++G(d,p) GD3BJ	0:22:45	4:18:04
M062X/6-311++G(d,p)	0:16:19	4:10:09
B3LYP/Def2TZVP	0:15:18	3:00:43
MP2/6-311G++(d,p)	4:48:02	10:35:07

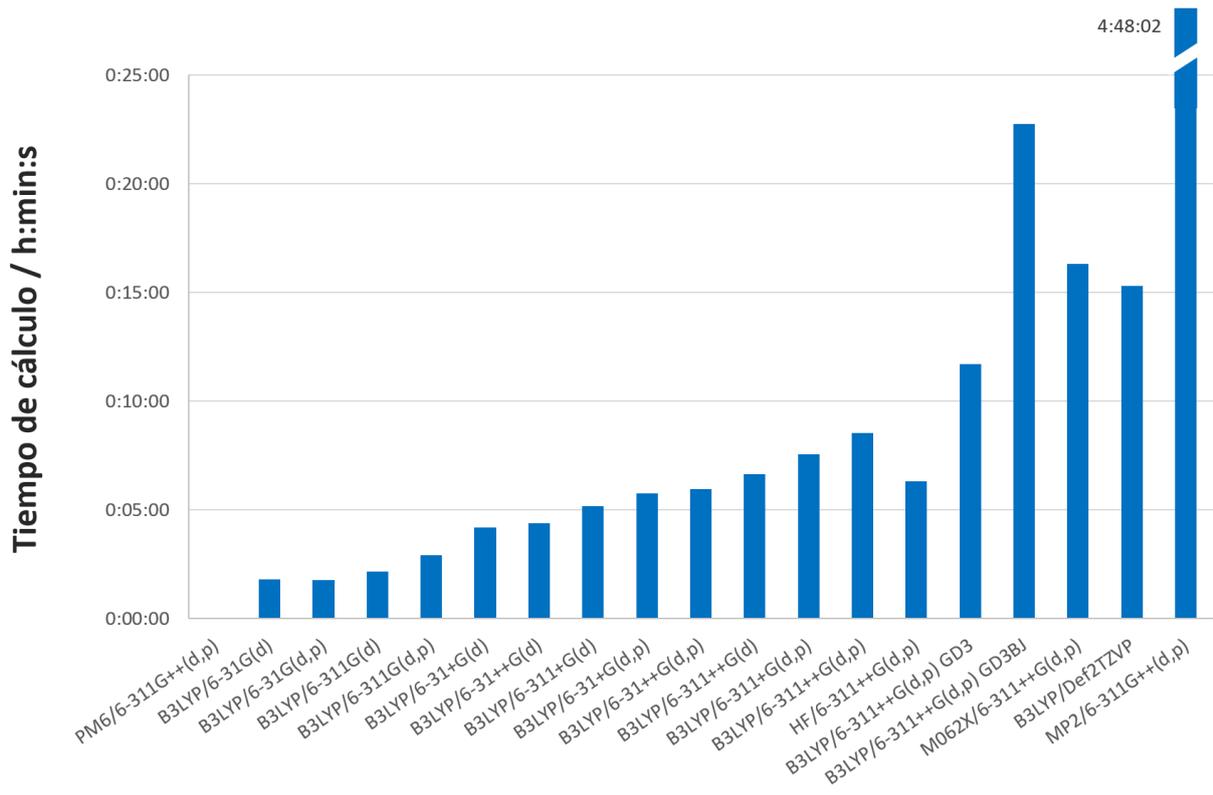


Figura 18: Tiempo necesario para la optimización de geometrías para cada nivel de teoría y base, por paso y por CPU.

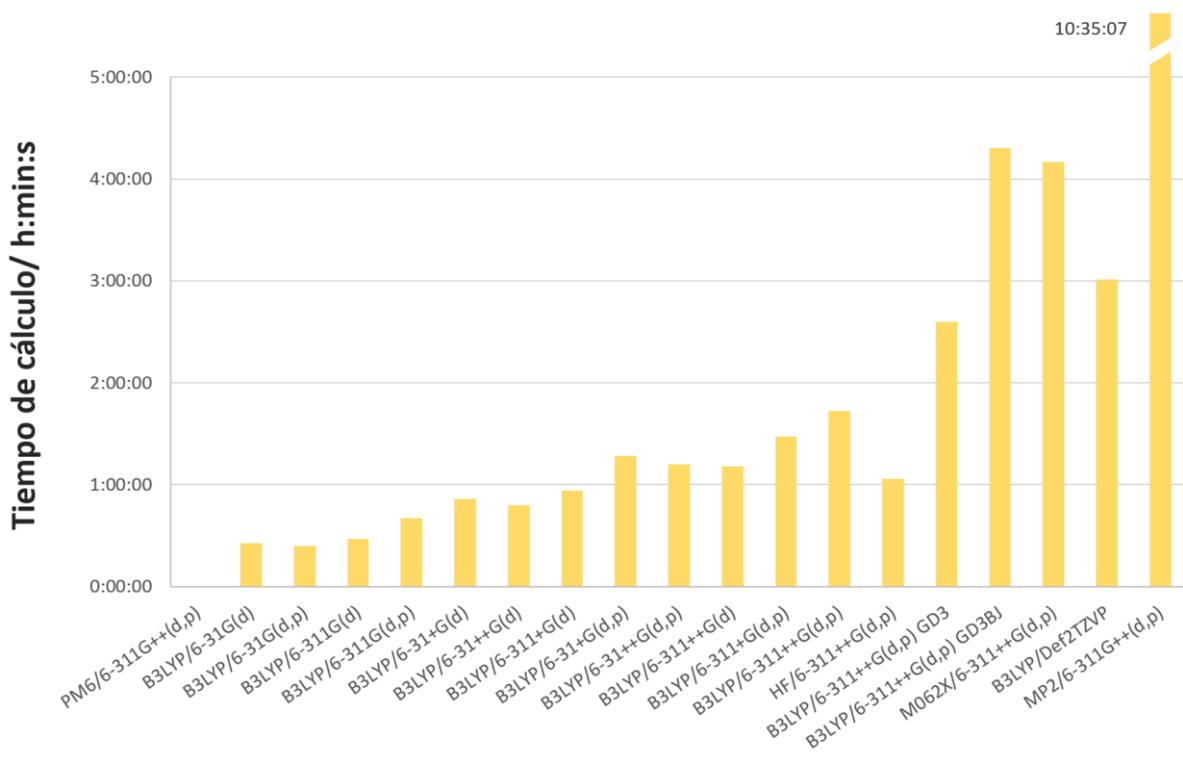


Figura 19: Tiempo necesario para el cálculo de frecuencias por CPU para cada nivel de teoría y base.

Como puede observarse, cualquier pequeña mejora que se introduzca en las bases aumenta ligeramente el tiempo de cálculo. El tiempo empleado en la base Pople más completa aumenta cuatro veces respecto de la más sencilla, lo cual parece bastante razonable teniendo en cuenta que la mejora es sustancial. No es extraño que la base 6-311++G(d,p) haya sido y sea ampliamente utilizada. Otro detalle importante es el apenas aumento del tiempo de cálculo de un nivel HF a un B3LYP. Teniendo en cuenta que los B3LYP, así como otros métodos DFT, suelen proporcionar muy buenos resultados generalmente, no es de extrañar que su desarrollo recibiera el Premio Nobel en 1998. Finalmente existe un incremento de tiempo notable, aunque no exagerado, al aplicar las dispersiones de Grimme, que tienen en cuenta las interacciones de largo alcance o los funcionales que las incorporan (M06-2X). En breve se discutirá si este incremento está justificado.

En relación al método semiempírico PM6, si bien es cierto que reproduce un aparente orden energético prácticamente igual a como lo hacen los métodos DFT más completos en un tiempo varios ordenes de magnitud menor, presenta varios problemas. En primer lugar, no proporciona un resultado coherente en cuanto a las energías relativas. Mientras que los métodos DFT que incluyen dispersiones sitúan al confórmero más estable $400-500\text{ cm}^{-1}$ más bajo en energía que el siguiente, el PM6 obtiene que hay hasta 14 confórmeros por debajo de ese límite, lo cual es un factor que daría lugar a conclusiones erróneas de cara a la cantidad de estructuras que se espera encontrar en el experimento. Es decir, a pesar de que el tiempo de cálculo es muy rápido (segundos), los resultados son muy “sospechosos” y casi todas las estructuras obtenidas son isoenergéticas. Además, tal y como se muestra en la Tabla 3 para la estructura 66, las geometrías son muy “pobres” y, mientras que todos los métodos proporcionan unas constantes rotacionales similares, el método PM6 proporciona un valor de la constante rotacional A un 10% fuera del valor predicho por el resto de los métodos. Esto afectaría enormemente de cara a una asignación conformacional, sobre todo para las búsquedas de transiciones tipo b (las más intensas) y c . Todo ello indica que el método no es muy fiable en el contexto que nos movemos, que requiere una precisión notable tanto en los valores energéticos como en los estructurales. Esto ocurre con varias estructuras. Curiosamente, la discrepancia entre las geometrías es debido a una sobreestimación de las interacciones, como por ejemplo la interacción C-H...O-H en la estructura 66 que la precide a 2.35 \AA tal y como se puede apreciar en la Figura 20. La diferencia es de casi un Armstrong con respecto al resto de los métodos.

Tabla 3: Parámetros espectroscópicos calculados con distintos métodos de cálculo, empleando la misma base, 6-311++G(d,p), correspondientes al conformero 66.

Conformero	B3LYP-GD3BJ	M06-2X	MP2	PM6
A(MHz)	885.9	912.5	887.6	1004
B(MHz)	208.7	214.5	214.2	212
C(MHz)	185.7	190.6	190.1	194
μ_a (D)	2.3	2.3	2.3	2.8
μ_b (D)	4.4	4.0	3.8	4.3
μ_c (D)	-1.2	-1.3	-1.2	-1.5

A, B, y C representan las constantes rotacionales; μ_a , μ_b , y μ_c son los valores de las componentes del momento dipolar eléctrico (en Debyes).

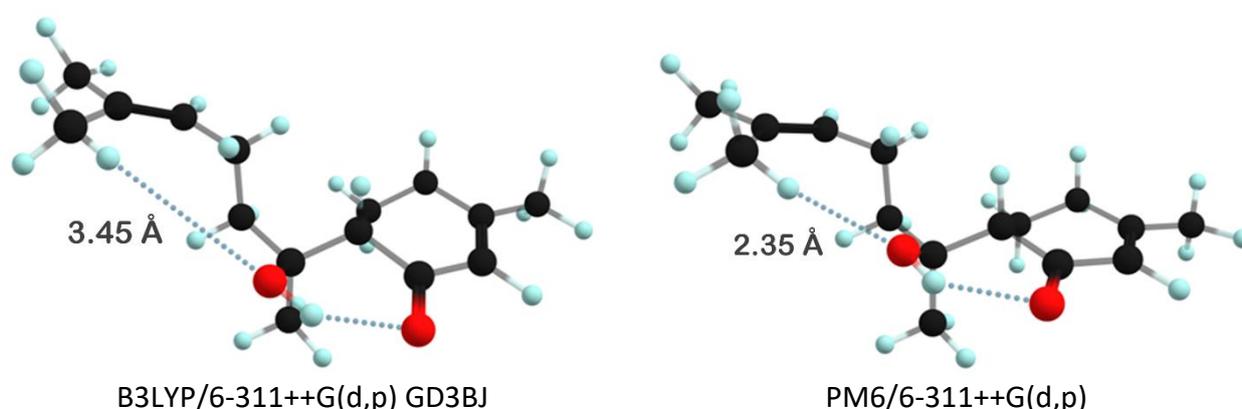


Figura 20: Distancias entre el hidrógeno del grupo metilo ubicado al final de la cadena carbonada y el grupo hidroxilo, proporcionada por los niveles de cálculo B3LYP y PM6, usando la base 6-311++G(d,p), para la estructura 66.

Finalmente, los cálculos MP2 presentan varios problemas: por un lado, el tiempo empleado para la optimización de la geometría es muy alto, siendo al menos un orden de magnitud superior a los DFT más exigentes; además, hay que tener en cuenta que el número de pasos requerido para optimizar fue superior al resto y que, en algunos casos, la convergencia no era posible sin un criterio de seguimiento de las constantes de fuerza para la minimización de la estructura; por otro lado, el método no paraleliza bien, por lo que el empleo del doble de procesadores no conlleva a la mitad del tiempo necesario, en contraposición con los métodos DFT donde sí que se cumple esta regla; por último, el *scratch* necesario además de requerir un tamaño considerable (cada cálculo requiere de 0.15 TB durante el cálculo de la optimización y de 0.5 TB durante el cálculo de frecuencias), requiere además de una gestión del sistema de colas especial: la escriturá en disco es uno de los mayores problemas en los *clusters*, y el modo óptimo no se arregla añadiendo un disco más grande. La solución es añadir un sistema de discos (*cluster*) que puedan escribir la información en varios de ellos a la vez, ya que la escritura en disco, incluso para los discos SSD, es muy pesada y si se tiene dos o más cálculos escribiendo en un único disco, es muy normal que los cálculos “mueran”. Este hecho se comenta

como curiosidad porque ocurrió durante la realización de este trabajo. En resumen, el coste computacional es excesivo por lo que su aplicación es inviable para el estudio de esta molécula. De hecho, en el tiempo en el que se realiza este trabajo no se terminan de optimizar todas las estructuras consideradas, por lo que no se incluyen en la Tabla 3, ni se pueden discutir los resultados de la intramolecularidad. Este hecho justifica aún más la necesidad de cálculos menos pesados y fiables tales como los métodos DFT.

Por otro lado, de estos datos cabe destacar que el tiempo de optimización se correlaciona con el del cálculo de frecuencias. Es decir, cuanto mayor coste computacional requiere la optimización de una estructura, mayor será el de su cálculo de frecuencias. Además, el tiempo requerido para el cálculo de frecuencias es varias veces mayor que el de la optimización. El cálculo de frecuencias es necesario para comprobar que las estructuras obtenidas son mínimos auténticos en la superficie de energía potencial, además de calcular la energía en el punto cero y energía de Gibbs, por lo que no se suele prescindir de él y es importante tenerlo en cuenta.

En la Tabla 4 se muestran las cinco estructuras más estables de cada metodología empleada, comprobando cómo cambian las energías relativas al usar niveles de cálculo que pueden ser muy simples o muy complejos, y al tener en cuenta distintas contribuciones, dispersiones, etc. A primera vista podría parecer que las estructuras predominantes son las mismas, sin embargo, existe una diferencia importante. Como se ha dicho anteriormente, la estructura 5 se encuentra estabilizada por un enlace de hidrógeno y fuerzas dispersivas, mientras que el otro grupo de estructuras (por ejemplo la estructura 66) pierden esta última interacción. Curiosamente, tanto los HF como los B3LYP, independientemente de la base empleada, no consideran bien las fuerzas dispersivas y predicen que la estructura más estable es la 66. Sólo al añadir dispersiones de Grimme o emplear M06-2X se invierte el orden energético llevando a la estructura 5 unos 500 cm^{-1} por debajo de la estructura 66.

Esto demuestra la importancia de las investigaciones actuales dedicadas a reforzar las carencias de cada metodología. Experimentalmente y de cara al análisis espectroscópico, esto se traduce en una diferencia abismal. Un uso incorrecto o incompleto de la metodología implicaría la búsqueda de una estructura errónea o incluso descartar estructuras que se debieran de tener en cuenta.

Tabla 4: Orden de estabilidad para los cinco conformeros de más baja energía (en cm^{-1}) según cada nivel y base de cálculo empleado.

Orden estabilidad	1º	2º	3º	4º	5º
PM6/6-311++G(d,p)	conf. 5	conf. 66	conf. 1	conf. n4	conf. 3
	0	35	86	132	174
B3LYP/6-31G(d)	conf. 1	conf. 66	conf. 4	conf. 3	conf. 5
	0	2	84	106	331
B3LYP/6-31G(d,p)	conf. 1	conf. 66	conf. 4	conf. 3	conf. 5
	0	2	90	108	312
B3LYP/6-311G(d)	conf. 66	conf. 1	conf. 4	conf. 3	conf. 5
	0	24	85	122	378
B3LYP/6-311G(d,p)	conf. 66	conf. 1	conf. 4	conf. 3	conf. 5
	0	28	86	126	378
B3LYP/6-31+G(d)	conf. 66	conf. 1	conf. 4	conf. 3	conf. 5
	0	22	127	152	458
B3LYP/6-31++G(d)	conf. 66	conf. 1	conf. 4	conf. 3	conf. 5
	0	17	101	123	504
B3LYP/6-311+G(d)	conf. 66	conf. 1	conf. 4	conf. 3	conf. 5
	0	22	109	134	466
B3LYP/6-31+G(d,p)	conf. 66	conf. 1	conf. 4	conf. 3	conf. 5
	0	13	96	114	483
B3LYP/6-31++G(d,p)	conf. 66	conf. 1	conf. 4	conf. 3	conf. 5
	0	17	103	124	481
B3LYP/6-311++G(d)	conf. 66	conf. 1	conf. 4	conf. 3	conf. 5
	0	22	127	152	458
B3LYP/6-311+G(d,p)	conf. 66	conf. 1	conf. 4	conf. 3	conf. 5
	0	22	102	128	461
B3LYP/6-311++G(d,p)	conf. 66	conf. 1	conf. 4	conf. 3	conf. 5
	0	15	106	132	450
HF/6-311++G(d,p)	conf. 66	conf. 1	conf. 4	conf. 3	conf. 5
	0	39	126	163	619
B3LYP/6-311++G(d,p) GD3	conf. 5	conf. 1	conf. 66	conf. 6	conf. 4
	0	402	435	508	726
B3LYP/6-311++G(d,p) GD3BJ	conf. 5	conf. 1	conf. 66	conf. 6	conf. 4
	0	470	489	491	776
M062X/6-311++G(d,p)	conf. 5	conf. 6	conf. 66	conf. 1	conf. 14
	0	432	439	477	797
B3LYP/Def2TZVP	conf. 5	conf. 1	conf. 66	conf. 6	conf. 4
	0	384	416	489	671

6.2. PREDICCIÓN DEL ESPECTRO

Uno de los aspectos más importantes de cara al experimento, es la realización de una predicción del espectro experimental que se va a obtener. Gracias a ello, la asignación de las señales obtenidas será más sencilla y se evaluará qué conformeros estarán presentes.

En primer lugar, se eligen los conformeros para los cuales se va a realizar la simulación. Sabiendo que el estudio se hará por expansión supersónica, la distribución conformacional inicial permanecerá similar siempre que las barreras de interconversión entre conformeros sean lo suficientemente altas. Además, los conformeros más abundantes y poblados serán los más estables. Por esta razón lo conveniente es realizar la predicción comenzando por el conformero de menor energía. Sin embargo, se plantea otro problema, no se conoce qué método de cálculo teórico se ajusta mejor a la experimentación, y no todos los métodos utilizados proporcionan el mismo resultado en cuanto al orden energético de los conformeros. En principio, los métodos más completos sitúan al conformero 5 como el único candidato a ser observado en el experimento, ya que posee una gran diferencia energética con el resto. Por ello, lo más razonable sería tratar de identificar esta estructura, y una vez que se tenga, seguir con las demás si finalmente las hay. Otra opción sería que se haya sobreestimado las interacciones no covalentes en el tratamiento teórico, por lo que se deberían buscar otras estructuras, siendo la estructura 66 una gran candidata. Por ello, se ha decidido realizar la predicción de ambas estructuras para este trabajo, pero el procedimiento para buscar más estructuras sería similar.

Para realizar la predicción, son necesarios los datos de las constantes rotacionales de cada conformero que se calculan durante la optimización de cada geometría. Los valores de las constantes rotacionales, junto con los momentos dipolares, son claves para interpretar los espectros experimentales. Existen varios programas que, una vez introducidos estos parámetros, permiten calcular las energías para saber a qué frecuencias aparecerán las distintas transiciones rotacionales y su intensidad. Para este trabajo se ha empleado el programa JB95⁵⁶. Las constantes rotacionales y los momentos dipolares de las estructuras 5 y 66 se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5: Constantes rotacionales y momentos dipolares de los dos conformeros representativos de la hernandulcina empleados en la predicción.

	Conformero 5	Conformero 66
A(MHz)	501	886
B(MHz)	429	209
C(MHz)	290	186
μ_A (D)	1.56	2.35
μ_B (D)	4.19	4.38
μ_C (D)	-2.72	-1.24

A primera vista se trata de un caso muy interesante de espectroscopía de rotación. La hernandulcina, al igual que la mayoría de moléculas, es una molécula de tipo trompo asimétrico (sus momentos de inercia siguen el orden $I_A < I_B < I_C$) cuyo cálculo de niveles de rotación no es sencillo. El tratamiento general consiste en asumir que la función de onda se puede expandir en términos de funciones de tromposimétricas en dos límites: oblate ($I_A \cong I_B < I_C$) y prolata ($I_A < I_B \cong I_C$). Se usa un sistema de doble subíndice J_{K_{-1}, K_1} , donde K_{-1} representa el valor límite trompo simétrico prolata y K_1 el oblate. El parámetro de asimetría K introducido por Ray nos proporciona el grado de asimetría (22).

$$K = \frac{2B - A - C}{A - C} \quad (22)$$

En este caso, la estructura 5 de la hernandulcina posee un valor de $K \cong 0.32$, es decir, tiende a oblate, mientras que la 66 posee un valor de $K \cong -0.93$, por lo que tiende a prolata. El interés didáctico se encuentra en que el caso habitual es tener moléculas de tipo prolata, mientras que en este caso tenemos ambas.

Con el fin de realizar una redacción más lógica, se comenzará por describir el espectro predicho por el confórmero de tipo prolata, el 66, por ser el caso más habitual. En la Figura 21 se muestra el espectro rotacional predicho para esta estructura. Como se puede observar, las transiciones más intensas aparecen entre 2000 y 8000 MHz, por lo que su medición en esta zona sería ideal dado que en el GEM se dispone de un espectrómetro de banda ancha especializado en este rango. Así, la primera observación es que el sistema es abordable. El espectro posee muchas transiciones debido a que presenta valores de momento dipolar considerable en los tres ejes. Aunque las transiciones más intensas serán las de tipo *b*, los patrones en las transiciones de tipo *a* suelen ser más sencillos de identificar, por lo que se comenzaría con este tipo de transiciones. Este hecho puede verse claramente en la Figura 22, donde se representan únicamente las transiciones dadas por las transiciones de tipo *a* del confórmero 66. En la Figura 23 se muestra una ampliación de la zona 2200 – 3300 MHz. Como puede verse, las transiciones presentan un patrón característico ya que aparecen por grupos centrados a $(B + C)(J'' + 1)$ MHz, por lo que la separación entre grupos es de unos 400 MHz. Por otro lado, la anchura de cada grupo es de $(B - C)(J'' + 1)$ MHz, de manera que en la Figura 23 donde las transiciones tienen un valor de *J* en el rango de 5 a 7, la anchura es de unos 140 MHz.

Hernandulcina 66

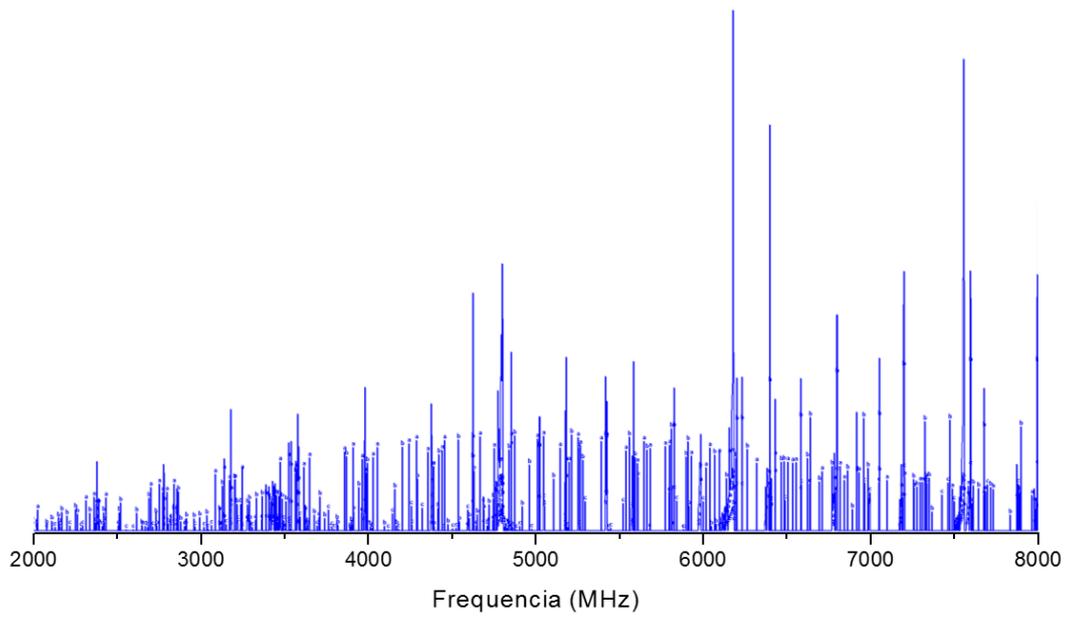


Figura 21: Espectro rotacional completo predicho para el conformero 66 de la hernandulcina.

Hernandulcina 66

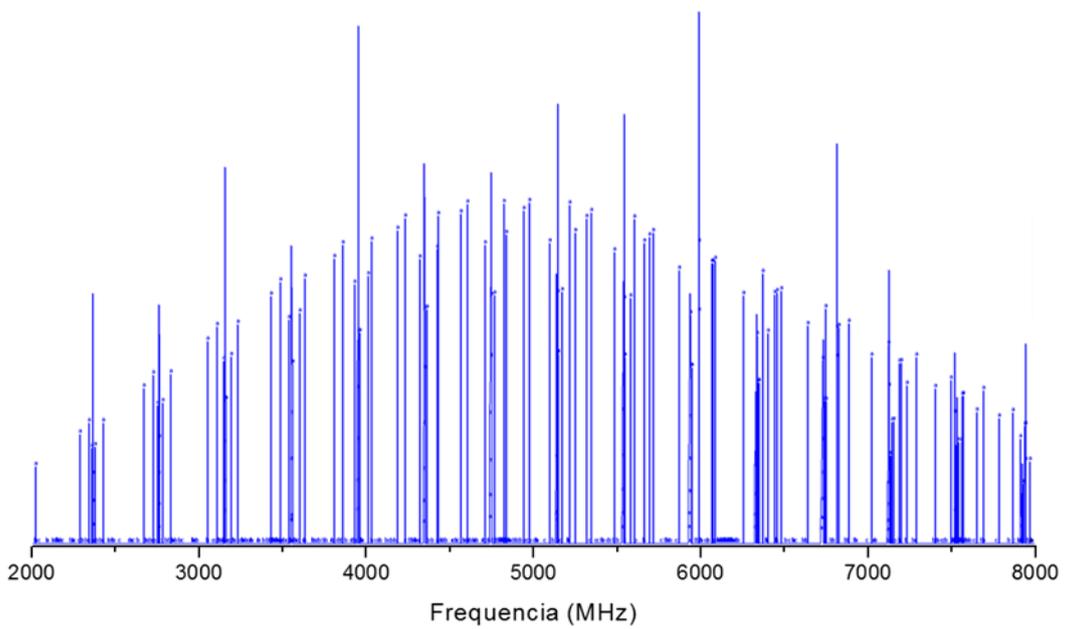


Figura 22: Transiciones de tipo a en el espectro rotacional predicho del conformero 66 de la hernandulcina.

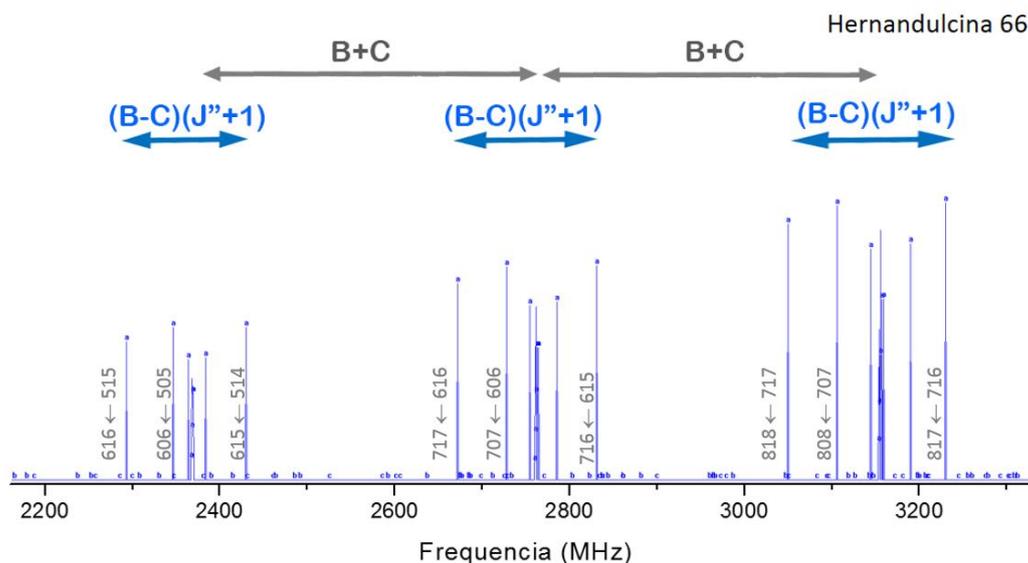


Figura 23: Ampliación de la región de 2200 a 3300 MHz de las transiciones tipo *a* predichas del confórmero 66 de la hernandulcina. Se indica su separación y se asignan algunas transiciones.

En resumen, las transiciones de tipo *a* de la estructura 66 serán fácilmente reconocibles, y sería fácil saber si esta estructura se encuentra presente en el experimento o no. En caso de ser así, una vez identificadas las transiciones de tipo *a*, se procedería a asignar las transiciones de tipo *b* y *c*.

En cuanto al confórmero 5, cuya asimetría es más semejante al tipo oblate, también posee momento dipolar significativo en los tres ejes y presenta un espectro rotacional muy poblado, como se observa en la Figura 24. En este caso, debido a que los valores constantes de rotación *B* y *C* son pequeños y diferentes entre sí, los patrones de tipo *a* presentan un conjunto de transiciones que no es tan sencillo de ver como en el caso del confórmero anterior, ya que se superponen entre ellos, como puede observarse en la Figura 25. No obstante, para las estructuras de tipo oblate las transiciones de tipo *c* son las que proporcionan la clave para resolver el espectro. En este caso los grupos de transiciones presentan una anchura $(A - B)(J'' + 1)$, y estarán separados $(A + B)(J'' + 1)$, como se muestra en la Figura 26.

Como puede verse, localizar las transiciones tipo *c* de la estructura 5 de la hernandulcina sería sencillo. Una vez asignadas dichas transiciones, se procedería a la asignación de las transiciones de tipo *a* y *b*.

En resumen, si se realiza una labor experimental se emplearía un software que permite la comparación del espectro obtenido experimentalmente con estas predicciones, sería posible buscar y asignar los confórmeros presentes en el experimento. Se comenzaría con la estructura más estable y, en caso de que sigan existiendo transiciones sin asignar, buscar el resto de los confórmeros.

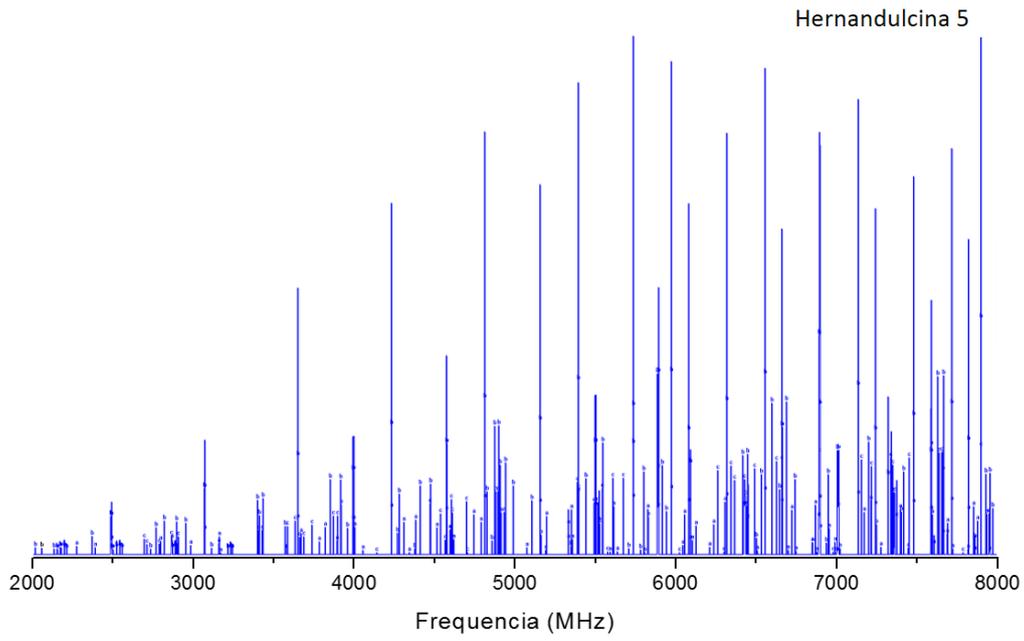


Figura 24: Espectro completo predicho para el confórmero 5 de la hernandulcina.

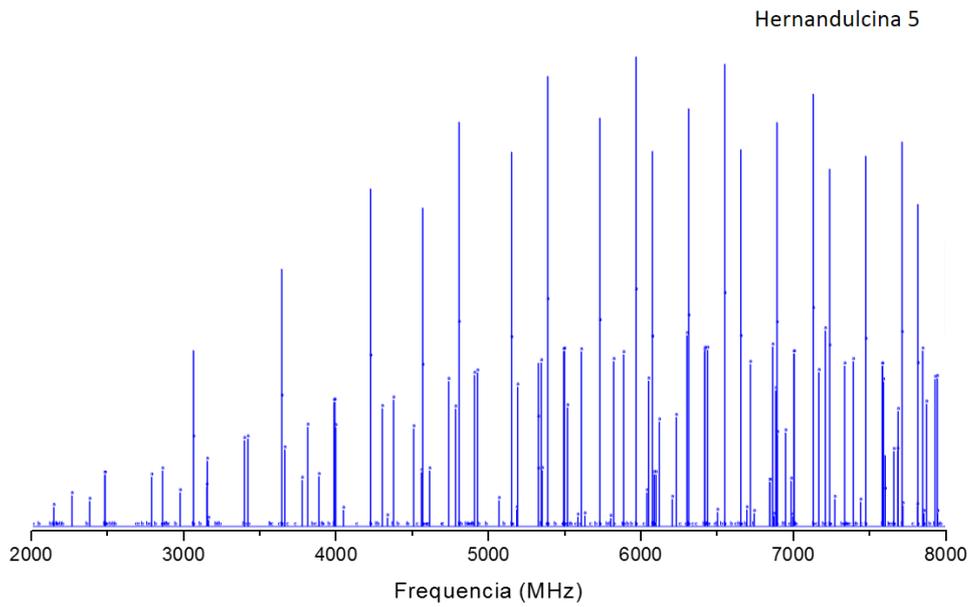


Figura 25: Transiciones de tipo a en la predicción del espectro 5 de la hernandulcina.

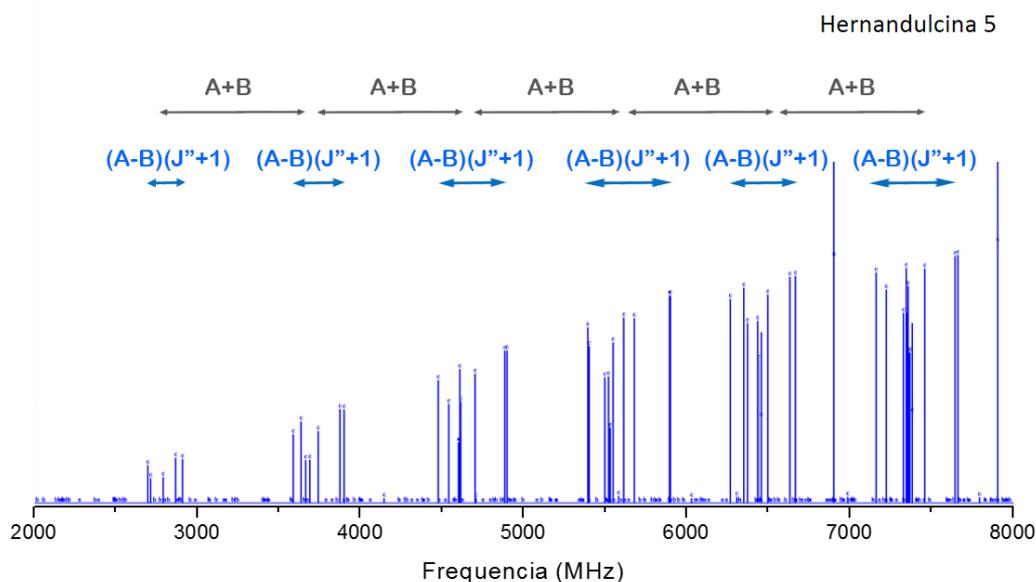


Figura 26: Transiciones de tipo c en la predicción del espectro de la hernandulcina, donde se muestra el valor de su separación.

6.2.1. EVALUACIÓN DE LA EXISTENCIA DE ROTACIÓN INTERNA

Si observamos la estructura de la molécula, vemos que existen cuatro grupos metilo que pueden dar lugar a rotación interna por el giro entorno al enlace sencillo que une el carbono metílico al resto de la molécula. Para comprobar si va a tener lugar la rotación interna a través de alguno de ellos, se realiza un escaneo de la superficie de energía potencial relajada (SEP) seleccionando un ángulo diedro que incluya el enlace de giro y los dos enlaces adyacentes como se muestra en la Figura 27. Las SEP proporcionan la energía de la molécula al variar el ángulo α de cada diedro, con lo que se obtienen gráficas de energía potencial cuya forma es periódica, y el máximo indica la barrera de energía potencial necesaria para la rotación. La altura de la barrera energética para cada caso se recoge en la

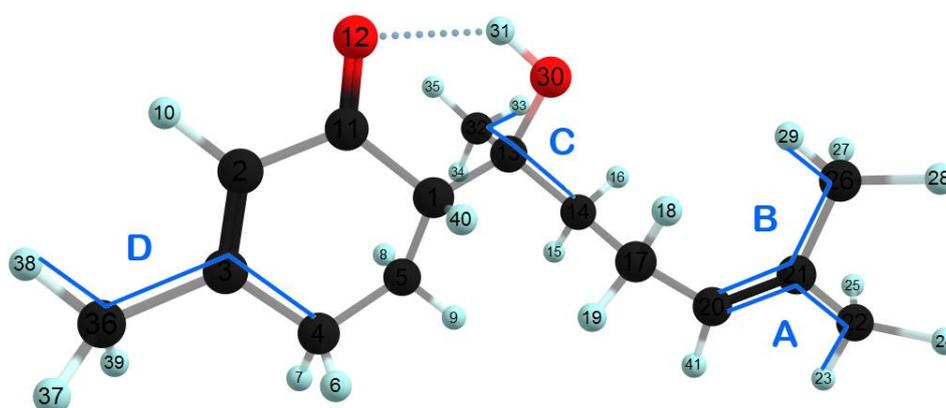


Figura 27: Estructura de la hernandulcina donde se resaltan los ángulos diedros con una posible rotación interna.

Tabla 6, las gráficas se muestran en la Figura 28.

Tabla 6: Datos de los diedros para los que se estudia la rotación interna.

Diedro	A	B	C	D
Energía máxima	790 cm ⁻¹	380 cm ⁻¹	1090 cm ⁻¹	640 cm ⁻¹

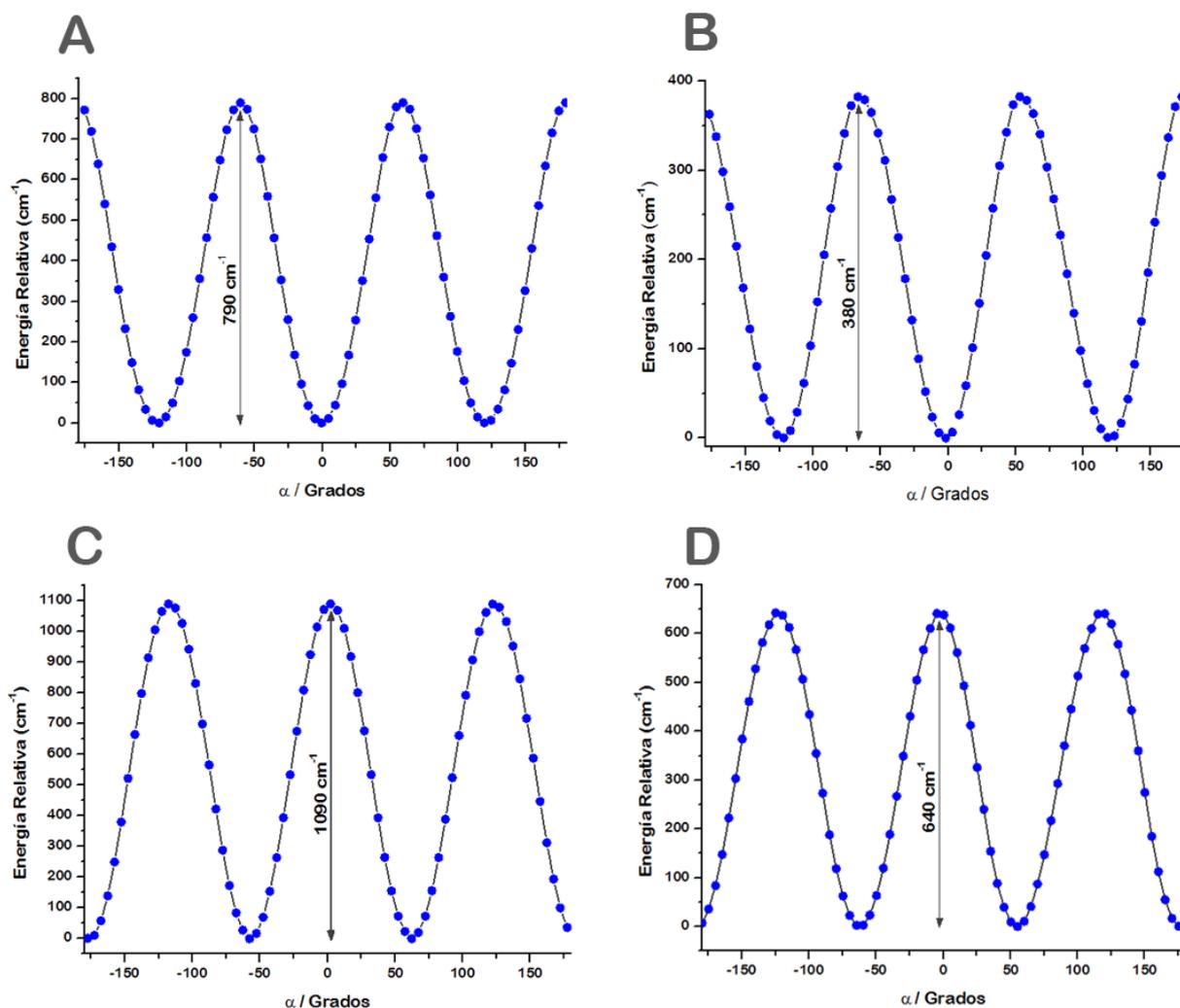


Figura 28: Superficie de energía potencial relajada de las cuatro posibles torsiones que pueden dar lugar a rotación interna.

Como dato indicativo, la rotación interna se produce cuando la altura de la barrera es inferior a unos 300 cm⁻¹. En los datos obtenidos para la hernandulcina, la energía máxima proporcionada por la rotación supera ampliamente en todos los casos el límite por el que puede producirse este efecto. Por ello, se puede decir que, afortunadamente, no existirá el fenómeno de rotación interna en esta molécula. Únicamente puede discutirse en el caso del diedro B, sin embargo, es poco probable que ocurra. Esta información es una buena noticia de cara a la resolución del espectro, ya que no se espera que las señales salgan desdobladas por la ruptura de la degeneración como se explica en el punto 5.3.3., lo cual complicaría la asignación además de que también tendría efectos en la intensidad de las señales, ya que disminuiría al repartirse entre los distintos estados y para cada metilo.

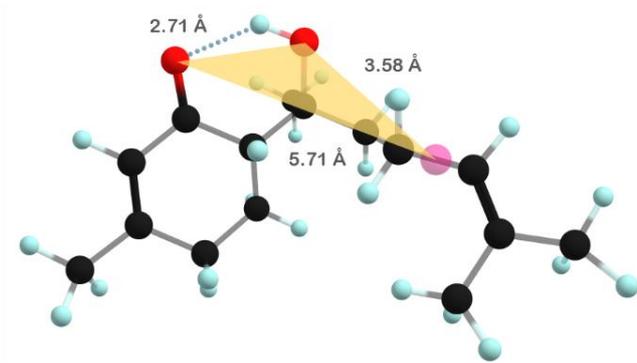
6.3. CORRESPONDENCIA CON EL TRIÁNGULO DEL DULZOR

Sabiendo que la hernandulcina es dulce cabe preguntarse si la teoría de Shallenberger-Acree-Kier puede explicar esta relación estructura-propiedad. Así, una vez que se han determinado las estructuras más estables, y por lo tanto más relevantes, es posible comprobar si existen los puntos necesarios para formar el glucóforo en dichas estructuras. En principio, los grupos cetona e hidroxilo cumplen con las características de electronegatividad y distancias requeridas y corresponden a los puntos AH/B. Por ello, faltaría localizar dónde se encuentra el punto γ .

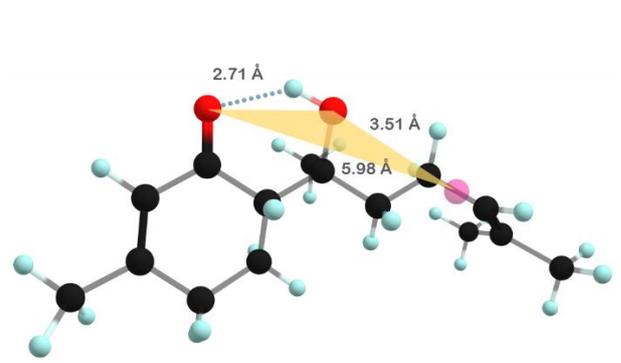
Midiendo las distancias entre átomos en cada una de las estructuras tridimensionales más estables, y por lo tanto más relevantes, se comprueba qué átomo o grupo de átomos puede actuar como punto de anclaje hidrófobo con el receptor dando lugar al glucóforo propuesto por la teoría. Las distancias para el punto γ de acuerdo a la teoría de Shallenberger-Acree-Kier se indican en la Figura 5 y se recuerdan en la Tabla 7. Esta medición se realiza para los confórmeros que aparecen como los más estables según todas las metodologías empleadas, y que además resultan ser los de menor energía relativa de Gibbs. Este último criterio es importante puesto que tiene en cuenta la estabilidad a una temperatura dada, en este caso a 298 K, y por ello la más relevante en el cuerpo humano. Los resultados se recogen en la Tabla 7, y el triángulo del dulzor para las estructuras más relevantes se muestra en Figura 29.

Tabla 7: Distancias entre los tres puntos de interacción del glucóforo con el receptor medidos en Angstrom.

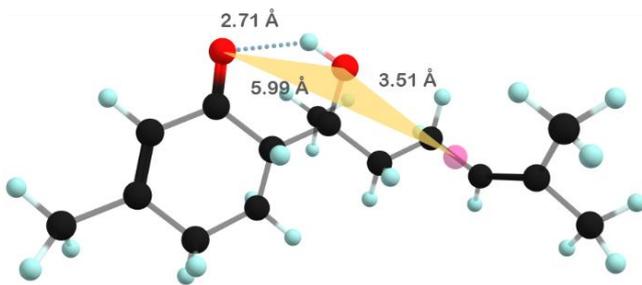
Distancia	A-B	A- γ	B- γ
Teórica	2.60	3.50	5.50
Confórmero 1	2.71	3.58	5.71
Confórmero 3	2.71	3.51	5.98
Confórmero 4	2.71	3.51	5.95
Confórmero 5	2.71	3.40	5.14
Confórmero 66	2.71	3.57	5.71



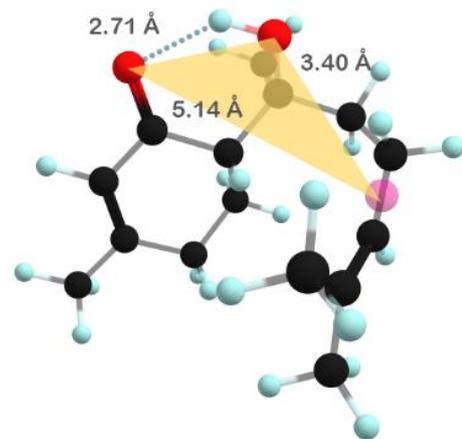
Confórmero 1



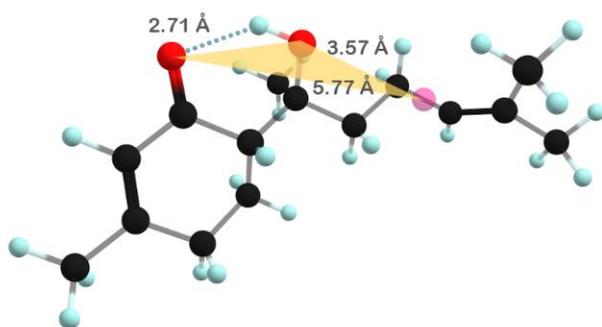
Confórmero 3



Confórmero 4



Confórmero 5



Confórmero 66

Figura 29: Triángulo del dulzor indicado en los cinco confórmeros más estables.

A la vista de los resultados, se llega a la conclusión de que el punto hidrófobo γ se encuentra entre uno de los átomos de carbono que forma el doble enlace y el carbono alílico en la cadena carbonada. Para hallar las distancias aproximadas se toma como referencia un punto entre los carbonos indicados, representado en color rosa en las imágenes de la Figura 29. Como se puede observar, este punto no tiene por qué corresponder a un átomo o grupo funcional concreto, sino simplemente pertenecer a una zona de fuerzas dispersivas en la molécula cuyas distancias con los puntos AH/B sea adecuada. Es interesante ver como el NCI Plot de la Figura 17, refuerza esta observación y se observa que existen fuerzas dispersivas fuertes en esa región, lo que también lleva a pensar que será un punto de interacción favorable con el receptor responsable del dulzor en las papilas gustativas. Según los estudios de Compadre et al.²⁷, cuando se sintetizan derivados de esta molécula en los que no existe el doble enlace en la cadena carbonada, como se puede ver en la Figura 30, la sustancia se vuelve amarga, lo cual corrobora las conclusiones aquí obtenidas.

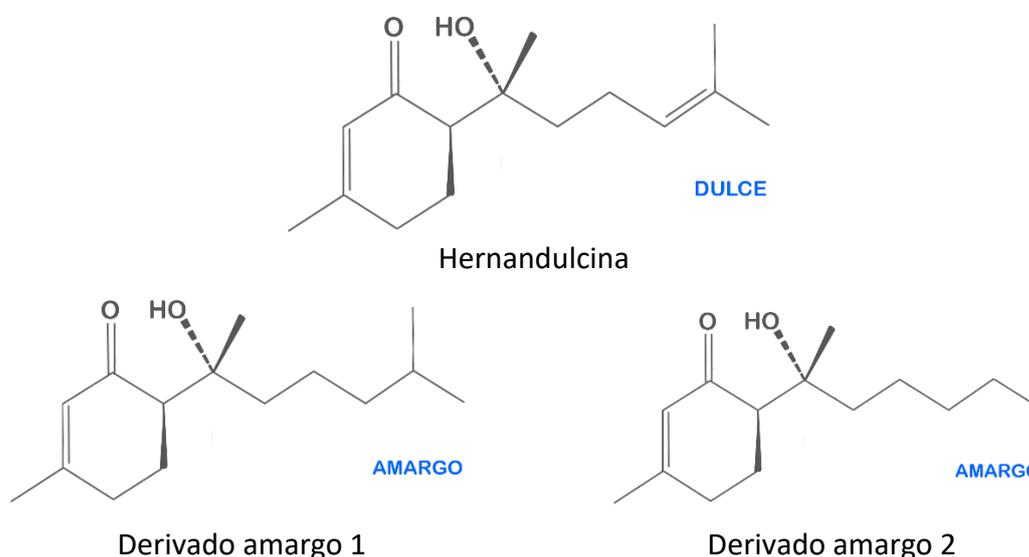


Figura 30: Estructura de la hernandulcina en comparación con la de dos de sus derivados amargos.

Finalmente, se puede concluir que la molécula encaja con la teoría del sabor dulce de Shallenberger-Acree-Kier y posee un glucóforo que consta de tres puntos de anclaje con los receptores de las papilas gustativas. No solo es eso si no que, como se ha mencionado anteriormente, todas las estructuras relevantes en términos de energía libre de Gibbs cumplen dicha teoría. Estas son las estructuras que estarán interconvirtiéndose continuamente a la temperatura del cuerpo humano. Si el receptor resultase ser muy específico (modelo llave-cerradura), el hecho de tener diversas formas en las que pueden encontrarse los confórmeros (plegada, extendida...) que cumplen con los requisitos, haría que al menos una de ellas encaje. Es decir, la adaptación de la hernandulcina sería excelente. Si el receptor no fuese tan específico, entonces todas las estructuras relevantes cumplirían con los requisitos de la teoría. En cualquier caso, ambos hechos podrían explicar el elevado dulzor de la hernandulcina.

7. CONCLUSIONES

Se ha realizado el estudio del panorama conformacional de la hernandulcina obteniendo 81 conformeros estables por debajo de 25 KJ/mol. Entre los conformeros obtenidos, se pueden diferenciar tres grupos. El primer grupo contiene aquellos conformeros que presentan un enlace de hidrógeno y además se estabilizan adicionalmente por fuerzas dispersivas entre el anillo y la cadena carbonada, lo que las sitúa entre las estructuras más estables. El segundo grupo también contiene conformeros estabilizados por enlaces de hidrógeno, pero disponen la cadena carbonada de una forma más extendida, que los desestabiliza ligeramente. Finalmente, el tercer grupo contiene aquellos conformeros que no poseen un enlace de hidrógeno en su estructura, lo que les lleva a una alta desestabilización. Gracias a esta búsqueda, se han determinado las estructuras más relevantes.

Al ser una molécula grande, se ha usado la hernandulcina como modelo para comparar el coste computacional y fiabilidad de distintos niveles de cálculo. Los métodos B3LYP tienen un coste computacional similar al método Hartree-Fock. Además, al introducir funcionales que tienen en cuenta interacciones no-covalentes como la dispersión de Grimme, Becke-Johnson o al usar M06-2X que las tiene en cuenta, el coste computacional aumenta sólo ligeramente, pero con resultados más acordes. Los métodos semiempíricos son muy rápidos, pero no estiman correctamente las diferencias energéticas ni las geometrías, de manera que no sería correcto tomarlos como referencia a la hora de realizar una predicción. Por último, se demuestra que los cálculos MP2 requieren de mucho tiempo de cálculo, por lo que su uso no es viable para moléculas de gran tamaño.

Se ha comprobado la viabilidad de la realización de un experimento de espectroscopía de rotación para la molécula. Por un lado, se ha demostrado que la molécula no presentará rotación interna. Por otro lado, se ha predicho el espectro que cabría esperar para dos de las estructuras más relevantes. Curiosamente, estas dos estructuras presentan distintos límites de simetría: una estructura es oblate y la otra prolata. En ambos casos, se encuentran una gran cantidad de transiciones debido a que las moléculas son activas en los tres ejes principales de inercia y se hace una predicción del espectro que servirá de cara a una posible experimentación futura. Las transiciones más intensas serán las de tipo *b*.

Finalmente, se ha dilucidado cuáles serán los tres puntos necesarios para formar el glucóforo en la hernandulcina según la teoría del dulzor de Shallenberger-Acree-Kier. Los grupos cetona e hidroxilo cumplen con las características de electronegatividad y distancias requeridas y corresponden a los puntos AH/B. Por otro lado, el punto γ se encuentra entre uno de los átomos de carbono que forma el doble enlace y el carbono alílico en la cadena carbonada. Todas las estructuras más estables poseen el triángulo del dulzor además de poseer distintas disposiciones espaciales, lo que explicaría el elevado dulzor de la hernandulcina.

8. BIBLIOGRAFÍA

- 1 C. M. Hladik, B. Simmen and P. Pasquet, Primatological and anthropological aspects of taste perception and the evolutionary interpretation of "basic tastes" ., *Anthropology*, 2003, **41**, 67–74.
- 2 G. K. Beauchamp, Why do we like sweet taste: A bitter tale?, *Physiol. Behav.*, 2016, **164**, 432–437.
- 3 P. Mergenthaler, U. Lindauer, G. A. Dienel and A. Meisel, Sugar for the brain: the role of glucose in physiological and pathological brain function, *Trends Neurosci.*, 2013, **36**, 587–597.
- 4 I. Ramirez, Why do sugars taste good?, *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 1990, **14**, 125–134.
- 5 P. Jiang, J. Josue, X. Li, D. Glaser, W. Li, J. G. Brand, R. F. Margolskee, D. R. Reed and G. K. Beauchamp, Major taste loss in carnivorous mammals, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2012, **109**, 4956–4961.
- 6 The Science of Taste, <https://foodinsight.org/the-science-of-taste/>, (accessed 3 April 2019).
- 7 Preferencia por lo dulce, <https://www.tellmegen.com/results/rasgos/preferencia-dulce/>, (accessed 3 April 2019).
- 8 *Reglamento (CE) nº 1333/2008 sobre aditivos alimentarios*, 2008.
- 9 *Reglamento de la Unión Europea 1129/2011*, 2011.
- 10 P. J. Rogers, The role of low-calorie sweeteners in the prevention and management of overweight and obesity: evidence v. conjecture, *Proc. Nutr. Soc.*, 2018, **77**, 230–238.
- 11 R. Chauhan, Taste Masking: A Unique Approach for Bitter Drugs, *J. Stem Cell Biol. Transplant.* , 2017, **1**, 12.
- 12 S. S. Bharate, S. B. Bharate and A. N. Bajaj, Interactions and incompatibilities of pharmaceutical excipients with active pharmaceutical ingredients: a comprehensive review., *J. Excipients Food Chem.*, 2010, **1**, 3–26.
- 13 S. S. Bharate, S. B. Bharate and A. N. Bajaj, ChemInform Abstract: Interactions and Incompatibilities of Pharmaceutical Excipients with Active Pharmaceutical Ingredients, *ChemInform*, 2011, **42**, 3–26.
- 14 K. Srikanth, K. Priya and V. R. Mohan-Gupta, Natural sweeteners: A complete review, *J. Pharm. Res.*, 2011, **4**, 2034–2039.
- 15 S. D. Roper and N. Chaudhari, The cell biology of taste, *J. Cell Biol.*, 2010, **190**, 285–296.
- 16 D. Liu, N. Archer, K. Duesing, G. Hannan and R. Keast, Mechanism of fat taste perception: Association with diet and obesity, *Prog. Lipid Res.*, 2016, **63**, 41–49.
- 17 T. Yamamoto, Brain mechanisms of sweetness and palatability of sugars., *Nutr. Rev.*, 2003, **61**, S5-9.
- 18 QIAGEN - Sweet Taste Signaling, <https://www.qiagen.com/us/shop/genes-and-pathways/pathway-details/?pwid=425>, (accessed 9 April 2019).
- 19 R. S. Shallenberger, The AH,B glycoprotein and general taste chemistry, *Food Chem.*, 1996, **56**, 209–214.

- 20 R. S. Shallenberger, *Taste chemistry*, Springer-Science+Business Media, B.V., 1st edn., 1993.
- 21 F. Bruni, C. Di Mino, S. Imberti, S. E. McLain, N. H. Rhys and M. A. Ricci, Hydrogen Bond Length as a Key to Understanding Sweetness, *J. Phys. Chem. Lett.*, 2018, **9**, 3667–3672.
- 22 L. B. Kier, A Molecular Theory, *J. Pharm. Sci.*, 1972, **61**, 1394–1397.
- 23 C. Bermúdez, I. Peña, S. Mata and J. L. Alonso, Sweet Structural Signatures Unveiled in Ketohexoses, *Chem. - A Eur. J.*, 2016, **22**, 16829–16837.
- 24 E. R. Alonso, I. León, L. Kolesniková and J. L. Alonso, The Structural Signs of Sweetness in Artificial Sweeteners: A Rotational Study of Sorbitol and Dulcitol, *ChemPhysChem*, 2018, **19**, 3334–3340.
- 25 E. R. Alonso, Biomolecules and interstellar molecules: structure, interactions and spectroscopic characterization, *Tesis Dr.*
- 26 Hernandulcin | C₁₅H₂₄O₂ | ChemSpider, <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.111731.html>, (accessed 22 March 2019).
- 27 C. M. Compadre, R. A. Hussain, J. M. Pezzuto, R. L. de Compadre Lopez and A. D. Kinghorn, Analysis of structural features responsible for the sweetness of the sesquiterpene, hernandulcin, *Experientia*, 1988, **44**, 447–449.
- 28 A. Arias Contreras, Medicinal Plants at Pura Vida Spa & Yoga Retreat: Sweet Aztec herb (Hierba dulce, orozus), <http://wellnessplant.blogspot.com/2011/11/sweet-aztec-herb-hierba-dulce-orozus.html>, (accessed 1 May 2019).
- 29 F. A. Souto-Bachiller, M. De Jesus-Echevarría, O. E. Cárdenas-González, M. F. Acuña-Rodríguez, P. A. Meléndez and L. Romero-Ramsey, Terpenoid composition of *Lippia dulcis*, *Phytochemistry*, 1997, **44**, 1077–1086.
- 30 A. D. Kinghorn and E. J. Kennelly, Discovery of Highly Sweet Compounds from Natural Sources, *J. Chem. Educ.*, 2009, **72**, 676–680.
- 31 C. M. Compadre, J. M. Pezzuto, A. D. Kinghorn and S. K. Kamath, Hernandulcin: An intensely sweet compound discovered by review of ancient literature, *Science (80-.)*, 1985, **227**, 417–419.
- 32 C. M. Compadre, R. A. Hussain, R. L. Lopez de Compadre, J. M. Pezzuto and A. D. Kinghorn, The Intensely Sweet Sesquiterpene Hernandulcin: Isolation, Synthesis, Characterization, and Preliminary Safety Evaluation, *J. Agric. Food Chem.*, 1987, **35**, 273–279.
- 33 T. Engel, P. Reid and W. Hehre, in *Química Física*, Pearson Educación S.A., 2006, pp. 597–656.
- 34 K. I. Ramachandran, G. Deepa and K. Namboori, *Computational Chemistry and Molecular Modeling*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2008.
- 35 A. D. McNaught and A. Wilkinson, in *IUPAC Compendium of Chemical Terminology*, Blackwell Scientific Publications, Oxford, Research Triangle Park, NC, 2nd edn., 1997.
- 36 C. J. Cramer, *Essentials of Computational Chemistry*, John Wiley & Sons Ltd, 2004.
- 37 A. S. Christensen, T. Kubař, Q. Cui and M. Elstner, Semiempirical Quantum Mechanical Methods for Noncovalent Interactions for Chemical and Biochemical Applications, *Chem. Rev.*, 2016, **116**, 5301–5337.
- 38 P. Hohenberg and W. Kohn, Inhomogeneous Electron Gas, *Phys. Rev.*, 1964, **46**, 864–871.

- 39 M. Bockstedte, A. Kley, J. Neugebauer and M. Scheffler, Density-functional theory calculations for poly-atomic systems: electronic structure, static and elastic properties and ab initio molecular dynamics, *Comput. Phys. Commun.*, 1997, **107**, 187–222.
- 40 L. Singh, David J., Nordstrom, in *Planewaves, Pseudopotentials and the LAPW Method*, Springer US, 2nd edn., 1994, pp. 5–21.
- 41 Density Functional (DFT) Methods, <http://gaussian.com/dft>, (accessed 12 March 2019).
- 42 S. Grimme, J. Antony, S. Ehrlich and H. Krieg, A consistent and accurate ab initio parametrization of density functional dispersion correction (DFT-D) for the 94 elements H-Pu, *J. Chem. Phys.*, 2010, **132**, 1–20.
- 43 A. D. Becke and E. R. Johnson, A density-functional model of the dispersion interaction, *J. Chem. Phys.*, DOI:10.1063/1.2065267.
- 44 S. Grimme, S. Ehrlich and L. Goerikg, Effect of the Damping Function in Dispersion Corrected Density Functional Theory, *J. Comput. Chem.*, 2011, **32**, 1456–1465.
- 45 J. Foresman and Æ. Frisch, *Explor. Chem. with Electron. Struct. Methods*, 1996, 302.
- 46 F. Weigend and R. Ahlrichs, Balanced basis sets of split valence, triple zeta valence and quadruple zeta valence quality for H to Rn: Design and assessment of accuracy, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2005, **7**, 3297.
- 47 J. L. Alonso and J. C. López, in *Encyclopedia of Signaling Molecules*, 2015, pp. 2–4.
- 48 P. Atkins and J. de Paula, *Química Física*, Editorial Médica Panamericana, 8th edn., 2008.
- 49 Stefano Rampino, Schematic diagram of a supersonic expansion from a nozzle. The change... | Download Scientific Diagram, https://www.researchgate.net/figure/Schematic-diagram-of-a-supersonic-expansion-from-a-nozzle-The-change-of-Mach-number-M_fig1_243480825, (accessed 4 July 2019).
- 50 P. Pinacho Morante, Microsolvation of biomolecular models by microwave spectroscopy: structure and cooperative effects., *Tesis Dr.*
- 51 C. C. Lin and J. D. Swalen, Internal Rotation and Microwave Spectroscopy, *Rev. Mod. Phys.*, 1959, **31**, 841–892.
- 52 V. D. G. Lister, J. N. Macdonald and N. L. Owen., Internal Rotation and Inversion. An Introduction to Large Amplitude Motions in Molecules. Academic Press, London 1978., *Angew. Chemie*, 1979, **91**, 450–451.
- 53 Maestro | Schrödinger, <https://www.schrodinger.com/maestro>, (accessed 1 May 2019).
- 54 Gaussian.com | Expanding the limits of computational chemistry, <https://gaussian.com/>, (accessed 10 May 2019).
- 55 Wolfram Mathematica: Computación técnica moderna, <http://www.wolfram.com/mathematica/>, (accessed 1 July 2019).
- 56 JB95 Spectral fitting program | NIST, <https://www.nist.gov/services-resources/software/jb95-spectral-fitting-program>, (accessed 4 July 2019).

9. ÍNDICE DE FIGURAS, TABLAS Y ECUACIONES.

Figura 1: Mecanismos celulares de la percepción de distintos sabores. En la imagen A se muestra para los sabores dulce, amargo y umami; En la B para el ácido y en la C para el salado.	6
Figura 2: Representación de la morfología y funcionamiento de las células receptoras del gusto.	6
Figura 3: Glucóforo según la teoría de Shallenberger-Acree.....	8
Figura 4: Interacción con el agua del glucóforo y el receptor.....	8
Figura 5: Triángulo del dulzor.....	9
Figura 6: Estructura bidimensional de la hernandulcina.	10
Figura 7: Planta Lippia Dulcis.....	11
Figura 8: Representación habitual de una superficie de energía potencial.....	14
Figura 9: Ejemplo de contracción de funciones Gaussianas. Al sumar dos funciones Gaussianas, se obtiene una nueva centrada en ambas.....	23
Figura 10: Efecto de las funciones difusas. λ es un factor que multiplica a la función difusa.....	24
Figura 11: Efecto de las funciones de polarización.	25
Figura 12: Introducción de la muestra a la cámara de expansión.	27
Figura 13: Formación y zonas del chorro supersónico.....	28
Figura 14: Función del potencial proporcionado por la rotación interna de un grupo metilo al cambiar el ángulo α	28
Figura 15: Posibles torsiones que pueden efectuarse en la estructura de la hernandulcina.	29
Figura 16: Los diez confórmeros de la hernandulcina más estables y los dos menos estables hallados con el método B3LYP/6-311++G(d,p) GD3BJ.	31
Figura 17: Confórmeros 5 y 66 de la hernandulcina junto con el análisis NCI Plot a color. Las superficies en azul corresponden a fuerzas atractivas, las repulsiones se muestran en rojo y en tonos verdes se representan las interacciones débiles.....	32
Figura 18: Tiempo necesario para la optimización de geometrías para cada nivel de teoría y base, por paso y por CPU.	35
Figura 19: Tiempo necesario para el cálculo de frecuencias por CPU para cada nivel de teoría y base. ...	35
Figura 20: Distancias entre el hidrógeno del grupo metilo ubicado al final de la cadena carbonada y el grupo hidroxilo, proporcionada por los niveles de cálculo B3LYP/6-311++G(d,p) y PM6, para la estructura 66.	37
Figura 21: Espectro rotacional completo predicho para el confórmero 66 de la hernandulcina.	42
Figura 22: Transiciones de tipo a en el espectro rotacional predicho del confórmero 66 de la hernandulcina.	42
Figura 23: Ampliación de la región de 2200 a 3300 MHz de las transiciones tipo a predichas del confórmero 66 de la hernandulcina. Se indica su separación y se asignan algunas transiciones.	43
Figura 24: Espectro completo predicho para el confórmero 5 de la hernandulcina.	44
Figura 25: Transiciones de tipo a en la predicción del espectro 5 de la hernandulcina.	44
Figura 26: Transiciones de tipo c en la predicción del espectro de la hernandulcina, donde se muestra el valor de su separación.....	45
Figura 27: Estructura de la hernandulcina donde se resaltan los ángulos diedros con una posible rotación interna.....	45
Figura 28: Superficie de energía potencial relajada de los cuatro posibles torsiones que pueden dar lugar a rotación interna.....	46
Figura 29: Triángulo del dulzor indicado en los cinco confórmeros más estables.	48
Figura 30: Estructura de la hernandulcina en comparación con la de dos de sus derivados amargos.	49

Tabla 1: Parámetros espectroscópicos calculados y energías relativas a nivel B3LYP/6-311++G(d,p) GD3BJ, correspondientes a los 10 conformeros más estables de la hernandulcina. Los dos conformeros menos estables se muestran a la derecha.	30
Tabla 2: Datos obtenidos para el tiempo de cálculo de los distintos niveles de cálculo/base.	34
Tabla 3: Parámetros espectroscópicos calculados y energías relativas con distintos métodos de cálculo, empleando la misma base, 6-311++G(d,p), correspondientes al conformero 66.	37
Tabla 4: Orden de estabilidad para los cinco conformeros de más baja energía (en cm^{-1}) según cada nivel y base de cálculo empleado.	39
Tabla 5: Constantes rotacionales y momentos dipolares de los dos conformeros representativos de la hernandulcina empleados en la predicción.	40
Tabla 6: Datos de los diedros para los que se estudia la rotación interna.	46
Tabla 7: Distancias entre los tres puntos de interacción del glucóforo con el receptor medidos en Angstrom.	47
Ecuación 1: Energía para el estiramiento de enlaces.	15
Ecuación 2: Energía de deformación de ángulos de valencia.	16
Ecuación 3: Energía para el ángulo casi lineal.	16
Ecuación 4: Energía de estiramiento-doblado.	16
Ecuación 5: Energía de doblado fuera del plano.	16
Ecuación 6: Energía para las torsiones.	16
Ecuación 7: Energía para las interacciones de Van der Waals.	16
Ecuación 8: Energía de atracción electrostática entre átomos.	17
Ecuación 9: Operador Hamiltoniano en métodos perturbativos.	18
Ecuación 10: Energía en métodos perturbativos.	19
Ecuación 11: Función de onda en métodos perturbativos.	19
Ecuación 12: Funcional Kohn-Sham.	20
Ecuación 13: Local Density Aproximation.	20
Ecuación 14: Funcional GGA.	21
Ecuación 15: Energía de dispersión de Becke-Johnson.	22
Ecuación 16: Función para los orbitales moleculares como combinación lineal de orbitales atómicos. ...	23
Ecuación 17: Expresión para los orbitales atómicos.	23
Ecuación 18: Funciones gaussianas GTO.	23
Ecuación 19: Contracción de funciones Gaussianas.	23
Ecuación 20: Constante rotacional en el eje B en unidades de frecuencia.	25
Ecuación 21: Momento de inercia.	26
Ecuación 22: Grado de asimetría.	41