



Universidad de Valladolid

Facultad de Ciencias

TRABAJO FIN DE GRADO

Grado en Química

Estudio conformacional de la Dopamina

Autor: Elisa del Barrio de Ugarte

Tutor/es: Víctor Rayón

Índice

1. RESUMEN	5
2. INTRODUCCIÓN	7
3. OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO	11
3.1. OBJETIVOS.....	11
3.2. PLAN DE TRABAJO	12
4. METODOLOGÍA	13
4.1. ECUACIÓN DE SCHRÖDINGER INDEPENDIENTE DEL TIEMPO	13
4.2. APROXIMACIÓN DE BORN-OPPENHEIMER	14
4.3. SUPERFICIES DE ENERGÍA POTENCIAL	16
4.4. MÉTODOS DE LA QUÍMICA CUÁNTICA	18
4.5. TEORÍA DEL FUNCIONAL DE LA DENSIDAD.....	20
4.6. FUNCIONES DE BASE	22
4.7. MODELOS DE DISOLVENTE: MÉTODOS IMPLÍCITOS DE CONTINUO	23
4.8. TEORÍA DE ÁTOMOS EN MOLÉCULAS DEL PROF. RICHARD BADER.....	24
4.9. ANÁLISIS CINÉTICO: LA ECUACIÓN DE EYRING	25
5. RESULTADOS	27
5.1. NUMERACIÓN DE LOS ÁTOMOS Y ÁNGULOS DIEDROS EN LA DOPAMINA.....	27
5.2. DOPAMINA PROTONADA EN FASE GAS	29
5.2.1. <i>Posibles conformaciones de la dopamina protonada</i>	29
5.2.2. <i>Análisis energético de la preferencia conformacional</i>	32
5.2.3. <i>Termoquímica y poblaciones relativas</i>	36
5.2.4. <i>Análisis de la densidad electrónica</i>	38
5.3. ESTUDIO DE LA DOPAMINA PROTONADA EN DISOLUCIÓN	40
5.3.1. <i>Energías de solvatación</i>	40
5.3.2. <i>Poblaciones de los confórmers en disolución</i>	42
5.3.3. <i>Geometrías en disolución</i>	44
5.4. ESTUDIO CINÉTICO	47
6. CONCLUSIONES	51

7. BIBLIOGRAFÍA.....	53
8. LISTADO DE TABLAS Y FIGURAS	55
8.1. LISTADO DE TABLAS	55
8.2. LISTADO DE FIGURAS.....	56

1. RESUMEN

La dopamina es un neurotransmisor con múltiples funciones en el cerebro ya que no solo participa en la sinapsis si no que puede actuar como hormona. Debido al pH en el organismo (aproximadamente de 7,4) la dopamina se encuentra protonada ($C_8H_{12}NO_2^+$) y es por ello que en este Trabajo de Fin de Grado se realiza un estudio conformacional de esta especie de la dopamina. El análisis conformacional que se ha elaborado investiga la estabilidad de los posibles confórmeros de este neurotransmisor, tanto en fase gas como en disolución, y así establecer la preferencia conformacional para comprender como actúa la dopamina con sus receptores.

Para realizar este estudio teórico, se han empleado diferentes metodologías computacionales, desde métodos que emplean la mecánica molecular hasta métodos basados en la Teoría del Funcional de la Densidad (DFT). También se ha realizado un análisis de la densidad electrónica de carga que permita observar las posibles interacciones intramoleculares que ayudan a estabilizar cada uno de los confórmeros obtenidos. Finalmente se ha completado este trabajo con un estudio cinético para estimar la posible interconversión de los confórmeros.

Dopamine is a neurotransmitter that plays several important roles in the brain and body. At physiological pH values (pH = 7.4 for human blood) dopamine occurs in their protonated form ($C_8H_{12}NO_2^+$), and that is the reason why in this work a conformational analysis of the protonated dopamine is performed. The conformational analysis that has been developed investigates the stability of the possible conformations of this neurotransmitter, both in gas phase and in aqueous solution , and set up a conformational preference.

In order to perform this theoretical study, different computational methodologies have been used ranging from molecular mechanics to methods based on the Density Functional Theory (DFT). An electron density analysis has also been carried out in order to observe the possible intramolecular interactions that help to stabilize each conformer. Finally we completed this work with a kinetic study to estimate the values of the rate constant for the interconversion of conformers.

2. INTRODUCCIÓN

La comunicación entre neuronas, denominada sinapsis, consiste en la transmisión de información de una neurona a otra para activarla o inhibirla. Un conjunto de neuronas excitadas e inhibidas a lo largo del circuito neuronal dan como resultado efectos observables en la conducta o algún proceso fisiológico. Esta transferencia de información puede darse de manera eléctrica (donde no hay liberación de neurotransmisores) o química (en la que sí se liberarán este tipo de sustancias).

La sinapsis química se da entre neuronas adyacentes con un espacio entre ellas de unos 20 nm, denominado hendidura sináptica. La neurona, al excitarse por la llegada de un impulso nervioso, libera los neurotransmisores a la hendidura sináptica. Estos neurotransmisores tienen que unirse a los receptores que se encontrarán en la neurona adyacente.

La dopamina es un neurotransmisor que activa 5 tipos distintos de detectores. Pertenece al grupo de las catecolaminas, que tienen una doble función, ya que no solo participan en la sinapsis, si no que se vierten al torrente sanguíneo produciendo una función hormonal. A este grupo de neurotransmisores también pertenecen la adrenalina o la norepinefrina, todas ellas sintetizadas a partir del aminoácido tirosina.

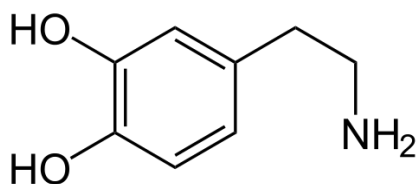


Figura 1: Estructura de la dopamina ($C_8H_{11}NO_2$)

La dopamina tiene muchas funciones en el cerebro, incluyendo papeles importantes en el comportamiento y la cognición, la actividad motora, la motivación y la recompensa, la regulación de la producción de leche, el sueño, el humor, la atención, y el aprendizaje.

Cuando realizamos una actividad que nos resulta agradable, se libera dopamina de forma automática, la cual permite la experimentación de la sensación de placer. La dopamina está distribuida también en las regiones neuronales que permiten el aprendizaje y la memoria, tales como el hipocampo y la corteza cerebral. Cuando no se segrega suficiente dopamina en estas zonas pueden aparecer problemas de memoria, imposibilidad de mantener la atención y dificultades para el aprendizaje.

Una de las funciones que hemos mencionado anteriormente es la regulación de la secreción de la prolactina, una hormona peptídica que estimula la producción de leche en las glándulas mamarias. También regula el sueño: la dopamina permite liberar melatonina, que es la hormona responsable de hacer sentir sueño cuando se lleva un tiempo sin dormir.

Al tener tantas funciones en el Sistema Nervioso Central, la dopamina tiene una serie de patologías asociadas a su mal funcionamiento:

- **Enfermedad de Parkinson:** Es la enfermedad que guarda una relación más directa con la actividad de la dopamina en el cerebro, ya que se produce principalmente por la degradación degenerativa de este neurotransmisor en los ganglios basales. La dopamina, en una persona enferma de Parkinson, aparece al 50% de los niveles normales. Esta disminución se traduce en síntomas motores, pero también puede ocasionar otras manifestaciones relacionadas con el funcionamiento del neurotransmisor como problemas de memoria, atención o depresión.

El tratamiento que se suministra a los pacientes es un precursor de la dopamina, que permite elevar levemente los niveles de este neurotransmisor en el cerebro.

- **Esquizofrenia y psicosis:** Se asocian a una cantidad anormalmente alta de dopamina. Por ello la mayoría de los fármacos antipsicóticos se basan en inhibir un tipo de receptores de la misma en la sinapsis y así bloquear su función.
- **Drogas de abuso:** Debido a la sensación de placer que nos proporciona un aumento de dopamina, algunas de las drogas de abuso más habituales en el consumo se basan en lograr esta elevación de la concentración de la dopamina. La cocaína, por ejemplo, impide la degradación de este neurotransmisor y las anfetaminas llegan mediante el torrente sanguíneo para transformarse en dopamina.
- **Adicción:** Relacionado con el punto anterior, aunque la droga de abuso no tenga una acción directa sobre la dopamina, sí que su adicción puede deberse a los niveles de la misma. Como ya hemos mencionado, la dopamina tiene la propiedad de producir la experimentación de placer y recompensa, y el consumo de cualquier droga produce estas sensaciones. Cuando el organismo se acostumbra a ellas, ya no se libera dopamina de manera natural, por lo que son necesarias mayores dosis de la droga de

abuso. Este razonamiento se puede aplicar a cualquier trastorno que cree dependencia.

La abstinencia frente a la sustancia que provoca adicción, implica una falta de segregación de dopamina, que como hemos nombrado, la ausencia de ella genera ansiedad, irritación y dolor, los cuales, solo se mitigan temporalmente mediante el consumo de la droga que demanda el cerebro.

El pH de la sangre es de 7,4 por lo que la dopamina en realidad se encuentra en su forma protonada. La mayor parte de los estudios indican que es el grupo amino el que se protona, aunque también se han realizado análisis de la dopamina asumiendo que es uno de los grupos hidroxilo el que se protona (Lagutschenkov, 2011).

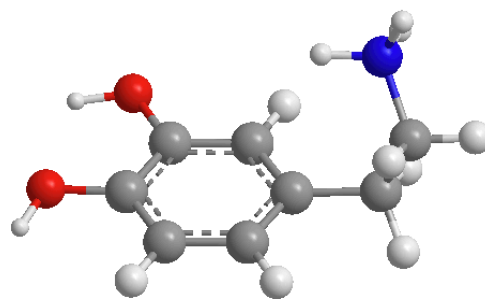


Figura 2: Dopamina protonada ($C_8H_{12}NO_2^+$)

Desde 1968 se han realizado análisis, tanto teóricos como experimentales, para comprender como actúa la dopamina con sus receptores. Uno de los estudios más recientes analiza el paisaje conformacional de la dopamina mediante resonancia magnética nuclear en un rango de pH de entre 2 y 11,5 tanto en fase gas como en disolución acuosa (Caellar, 2015).

Otro estudio reciente centrado en las posibles conformaciones que adopta la dopamina protonada, esta vez en fase gas, ha sido realizado mediante espectroscopía infrarroja y complementado con cálculos teóricos (Lagutschenkov, 2011).

Por último, y como base para el estudio teórico que se realiza en este Trabajo de Fin de Grado, se ha tomado como referencia el análisis computacional de Aliste y colaboradores (Aliste, 2001) donde no solo analizaban la dopamina sino otros derivados de este neurotransmisor, aunque a un nivel de cálculo inferior al utilizado en este TFG. Otro estudio teórico que también hemos considerado como referencia, fue publicado en el año 1999 y analiza el paisaje conformacional de la dopamina protonada tanto en fase gas como en disolución mediante metodologías ab initio y simulaciones de Monte Carlo (Nagy, 1999).

Todos los estudios publicados hasta la fecha proporcionan una imagen parecida del paisaje conformacional de la dopamina protonada: los conformeros plegados (Gauche) son más estables que el extendido (trans) en fase gas mientras que éste último parece estabilizarse claramente en disolución acuosa. La población relativa entre las conformaciones extendida y plegadas en disolución varía entre unos estudios y otros, pero parece existir acuerdo en que la conformación plegada es la dominante.

3. OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO

3.1. Objetivos

El principal objetivo del presente trabajo es el análisis conformacional de la dopamina protonada tanto en fase gas como en disolución. Con este fin nos hemos propuesto los siguientes objetivos parciales:

- I. Analizar la Superficie de Energía Potencial (SEP) de la dopamina protonada en fase gas con diferentes métodos teóricos. De la información obtenida en este paso deduciremos cuáles son las conformaciones más estables (y, por tanto, más pobladas). El hecho de usar diferentes metodologías, por otro lado, nos permitirá realizar un análisis comparativo de las diferentes herramientas teóricas.
- II. Racionalizar la preferencia conformacional observada a través del análisis topológico de la densidad electrónica de carga.
- III. Estudiar la solvatación de los diferentes confórmeros de la dopamina mediante métodos implícitos de continuo. En este punto deduciremos si la preferencia conformacional en disolución es la misma o por el contrario difiere de la obtenida en fase gas.
- IV. Calcular las constantes cinéticas de los procesos de rotación de los grupos hidroxilo para estimar el rango de tiempo en el que se produce la conversión entre confórmeros.

3.2. Plan de trabajo

El desarrollo del presente Trabajo Fin de Grado se ha llevado a cabo a través de las siguientes etapas:

- I. Búsqueda de antecedentes bibliográficos
- II. Estudio mediante mecánica molecular del paisaje conformacional de la dopamina protonada en fase gas.
- III. Selección de los conformeros más estables (en un rango de 5 kcal/mol) para su posterior estudio a niveles más altos de teoría.
- IV. Análisis energético de los resultados obtenidos y cálculo de las poblaciones relativas de los diferentes conformeros.
- V. Análisis topológico de la densidad electrónica de carga de los conformeros más estables.
- VI. Estudio de la solvatación de los diferentes conformeros mediante métodos implícitos de continuo.
- VII. Cálculo de las constantes cinéticas asociadas a los procesos de interconversión interna mediante rotación de los grupos hidroxilo.
- VIII. Elaboración de la presente memoria.

4. METODOLOGÍA

Nota: Las referencias bibliográficas consultadas para la elaboración de este apartado son las siguientes: Atkins et al 2008, Bertrán et al. 2000; Cramer 2004, Levine 2004.

4.1. Ecuación de Schrödinger independiente del tiempo

Las propiedades de un sistema compuesto por electrones se obtienen resolviendo la ecuación de Schrödinger independiente del tiempo que proporciona la energía y las funciones de onda (estacionarias) tanto del estado fundamental como de los estados excitados del sistema:

$$\hat{H}\Psi = E\Psi \quad (1)$$

El operador Hamiltoniano no relativista, \hat{H} , tiene la forma siguiente para un sistema de n electrones y N núcleos (unidades atómicas):

$$\hat{H} = -\sum_{K=1}^N \frac{\nabla_K^2}{2M_K} - \frac{1}{2} \sum_{i=1}^n \nabla_i^2 - \sum_{i=1}^n \sum_{K=1}^N \frac{Z_K}{R_{i,K}} + \sum_{i=2}^n \sum_{j<i}^n \frac{1}{r_{ij}} + \sum_{K=2}^N \sum_{L>K}^N \frac{Z_K Z_L}{R_{KL}} \quad (2)$$

Los dos primeros términos representan la energía cinética de los núcleos de masa M_K y de los electrones, respectivamente. El tercer término describe la atracción electrostática núcleo-electrón, el cuarto término la repulsión electrostática electrón-electrón y el quinto y último término la repulsión internuclear.

4.2. Aproximación de Born-Oppenheimer

El Hamiltoniano anterior (2) depende tanto de las coordenadas atómicas como de las nucleares lo que hace que la ecuación (1) sea difícil de resolver. Para simplificar el problema podemos aprovechar el hecho de que los electrones son mucho más ligeros que los núcleos por lo que estos últimos se mueven más lentamente adaptándose, de hecho, a la estructura electrónica del sistema. Esto sugiere que podemos dividir la ecuación de Schrödinger en dos ecuaciones independientes: una primera para los electrones moviéndose alrededor de un conjunto *fijo* de núcleos atómicos y una segunda ecuación nuclear que toma como referencia la estructura electrónica obtenida al resolver la ecuación anterior. Para el desarrollo de este trabajo es suficiente con resolver la primera de las dos ecuaciones puesto que no estamos particularmente interesados en la descripción del movimiento nuclear.

El Hamiltoniano electrónico representa, por tanto, el movimiento de los electrones en un campo de núcleos fijos y tiene la siguiente forma:

$$H_e = -\frac{1}{2} \sum_{i=1}^n \nabla_i^2 - \sum_{i=1}^n \sum_{K=1}^M \frac{Z_K}{R_{i,K}} + \sum_{i=2}^n \sum_{j<1}^n \frac{1}{r_{ij}} \quad (3)$$

Es decir, suponiendo que los núcleos están fijos y sólo tenemos en cuenta el movimiento de los electrones podemos despreciar el primer término en (2), es decir, la energía cinética de los núcleos, y tomar como constante la repulsión electrostática internuclear. Estos dos términos pasan a considerarse parámetros y no variables.

La ecuación de Schrödinger electrónica se puede representar:

$$H_e(r, R)\Psi_e(r, R) = E(R)\Psi_e(r, R) \quad (4)$$

cuya solución son las funciones de onda $\Psi_e(r, \mathbf{R})$, que dependen paramétricamente de las coordenadas nucleares \mathbf{R} , y las energías electrónicas de los estados fundamental y excitados asociadas a una determinada configuración nuclear.

El conjunto de energías electrónicas asociadas a un conjunto de geometrías nucleares constituye una superficie de energía potencial. Este concepto es de fundamental importancia en nuestro estudio y se comentará brevemente en el siguiente apartado. Es importante también recordar que cualquier sistema de $N > 2$ cuerpos no puede ser resuelto de manera

exacta por lo que es necesario acudir a métodos aproximados. Los métodos aproximados usados en este trabajo se describen en el apartado 4.4.

4.3. Superficies de Energía Potencial

La resolución de la ecuación de Schrödinger electrónica permite obtener la energía asociada a una configuración nuclear determinada. Resolviendo para un conjunto de configuraciones nucleares se obtiene lo que se conoce como Superficie de Energía Potencial (SEP). Técnicamente, la SEP se define como la suma de la energía electrónica más el potencial de repulsión internuclear para un conjunto de configuraciones nucleares.

El estudio topológico de la SEP permite obtener dos tipos de puntos críticos (o estacionarios, puntos de gradiente nulo) de interés químico:

- Mínimos: son los puntos críticos de la SEP caracterizados por derivadas segunda positivas. Se asocian a estructuras de equilibrio: reactivos, productos e intermedios de reacción.
- Puntos de silla de primer orden: son puntos estacionarios caracterizados por una (y sólo una) derivada segunda negativa. Estos puntos se asocian a estados de transición que conectan dos mínimos en la SEP.

Para la realización de este estudio fue necesario analizar la SEP de la dopamina protonada buscando todos los posibles mínimos (asociados a los diferentes conformeros del sistema). Adicionalmente, hemos realizado un estudio cinético asociado a la interconversión de dos conformeros concretos. Con este fin, fue necesario localizar los correspondientes puntos de silla de primer orden.

Una vez localizado un punto crítico, mínimo o de primer orden, es preciso comprobar que el número de derivadas segundas negativas es el correcto (cero en el primer caso, una en el segundo). Para ello, es necesario calcular, y diagonalizar, la matriz de las derivadas segundas (matriz Hessiana). En el caso de los puntos de silla de primer orden, el vector propio asociado al valor propio negativo nos va a indicar la dirección de la reacción desde el estado de transición hacia reactivos o productos. Este vector se conoce como vector de transición. El camino de reacción se define topológicamente como el camino de mínima energía que conecta dos mínimos en la SEP a través de un punto de silla de primer orden.

Por último, es importante también indicar que la diagonalización de la matriz Hessiana proporciona las constantes de fuerza que pueden transformarse en frecuencias armónicas de

vibración. Este proceso permite, por tanto, la obtención del espectro de infrarrojo (IR) de un conformero determinado que eventualmente podrá ser comparado con un espectro obtenido experimentalmente. Por otro lado, los cálculos de las frecuencias armónicas de vibración junto con los valores de las constantes rotacionales (que dependen de las masas y las posiciones nucleares) nos permiten aplicar las ecuaciones de la Termodinámica Estadística que definen las propiedades termodinámicas (energías libres de Gibbs, entalpías, capacidades caloríficas, etc.) del sistema. Estas ecuaciones se basan en el modelo del oscilador armónico, el rotor rígido y la partícula en una caja y se pueden encontrar en los textos de Química Física mencionados en la bibliografía. En este estudio, en concreto, nos interesaba particularmente la energía libre de Gibbs que hemos calculado para poder obtener poblaciones relativas de Boltzmann de los diferentes conformeros.

4.4. Métodos de la química cuántica

La ecuación de Schrödinger electrónica (3) ha de resolverse usando métodos aproximados toda vez que la resolución exacta no es posible, como se comentó anteriormente. Los métodos usados para resolver la ecuación de Schrödinger pueden dividirse en dos grupos

- **Métodos basados en campos de fuerzas (mecánica molecular)** que no consideran explícitamente los electrones.
- **Métodos mecanocuánticos** que se pueden subdividir a su vez en tres grandes grupos: métodos basados en la función de onda, métodos semiempíricos y métodos basados en la densidad electrónica.
 - a) Métodos basados en la función de onda: son aquellos que resuelven la ecuación de Schrödinger (3) a través de alguna metodología aproximada (teoría de perturbaciones, teorema variacional, etc.)
 - b) Métodos semiempíricos: parten de los métodos basados en la función de onda, pero simplifican parte del tratamiento matemático para hacer los cálculos más rápidos.
 - c) Métodos basados en la densidad electrónica: que resuelven el problema electrónico (3) tomando como herramienta de trabajo la densidad electrónica de carga, no la función de onda.

Los métodos basados en la función de onda (a) y algunos de los métodos basados en la densidad electrónica (c) no usan información experimental salvo los valores de constantes universales (constante de Planck, velocidad de la luz, etc.) y se denominan métodos *ab initio* o métodos basados en primeros principios. Otros métodos basados en la densidad electrónica de carga son, por el contrario, métodos semiempíricos técnicamente hablando, pero es importante señalar que contienen muy pocos parámetros empíricos (en muchos casos solamente 1) lo que los diferencia de los métodos semiempíricos clásicos (b) que contienen decenas o centenares de parámetros empíricos.

Para este estudio hemos utilizado varios métodos basados en la Teoría del Funcional de la Densidad que se describe brevemente a continuación.

Por otro lado, también hemos usado un método basado en la función de onda que se basa en un desarrollo perturbativo de la energía de correlación hasta segundo orden y se conoce con el nombre de MP2. La base teórica de este método es compleja y no se comentará en este trabajo. Los métodos basados en la densidad, por otro lado, se describen brevemente a continuación.

4.5. Teoría del Funcional de la Densidad

La teoría del funcional de la densidad se basa en dos teoremas (teoremas de Hohenberg y Kohn) que prueban que:

- (a) La densidad electrónica de carga determina todas las propiedades de un sistema polieletrónico. Y, en particular, la energía electrónica de un sistema de N electrones es también un funcional de la densidad, es decir, es una función de la densidad electrónica (un funcional es una función de funciones)
- (b) La densidad asociada a la energía del estado fundamental es concretamente la densidad del estado fundamental. Cualquier otra densidad proporciona una energía más alta.

Desgraciadamente, el funcional que proporciona la energía del estado fundamental cuando lee la densidad electrónica del estado fundamental es desconocido. De lo que disponemos es de aproximaciones más o menos elaboradas a este buscado funcional exacto de la densidad. Las diferentes aproximaciones se basan, esencialmente, en el número y tipo de componentes que incorporan:

- (a) Los funcionales que incorporan información de la densidad electrónica solamente se clasifican en la llamada Local Density Approximation (LDA)
- (b) Algunos funcionales incorporan, además de la información de la densidad electrónica, información acerca de su gradiente. Estos métodos pertenecen a la llamada *Generalized Gradient Approximation (GGA)*
- (c) Si a la información de la densidad y su gradiente añadimos parte de la contribución de intercambio Hartree-Fock, tenemos los llamados métodos *híbridos*.
- (d) Otro funcionales no incorporan el intercambio Hartree-Fock pero añaden información de la laplaciana de la densidad. Son los denominados funcionales *meta-GGA*
- (e) Los funcionales que incorporan tanto parte del intercambio Hartree-Fock como la laplaciana de la densidad se denominan *meta-GGA híbridos*.
- (f) Existen desarrollos más recientes que incluyen otras contribuciones más complejas.

Para este estudio, en concreto, hemos seleccionado los funcionales M06L (GGA), M062X (meta-GGA-híbrido), B3LYP (híbrido) y wB97XD (híbrido). Existe un debate en la literatura sobre la calidad de los diferentes funcionales y nuevos desarrollos teóricos se están publicando de forma continua. Para este trabajo hemos seleccionado estos cuatro funcionales puesto que pertenecen a diferentes clases en la clasificación anterior.

Por otro lado, parece evidente que la calidad de los resultados teóricos se incrementa en el sentido: *métodos semiempíricos* < *métodos basados en la densidad* < *métodos basados en la función de onda*, aunque la diferencia entre estas dos últimas metodologías es pequeña y muy dependiente de los métodos concretos bajo consideración.

4.6. Funciones de base

La función de onda electrónica se desarrolla como una combinación lineal de (productos de) orbitales moleculares monoeléctricos. Éstos a su vez, se desarrollan como una combinación lineal de funciones de base. En el modelo CLOA (Combinación Lineal de Orbitales Atómicos) las funciones de base son los orbitales atómicos, pero en los métodos basados en la función de onda o en la densidad electrónica las funciones de base son simples funciones matemáticas no necesariamente relacionadas (al menos no directamente) con los orbitales atómicos. Los orbitales moleculares se pueden expresar, por tanto, de la siguiente manera:

$$\phi_i = \sum_{\mu=1}^m C_{i\mu} \chi_{\mu} \quad (5)$$

siendo $C_{i\mu}$ los coeficientes de desarrollo del orbital molecular y χ_{μ} las funciones de base. Las funciones de base para diferentes átomos se desarrollan previamente por grupos de investigación especializados mientras que los cálculos que realizamos en este trabajo lo que hacen es proporcionar los coeficientes del desarrollo (5).

Para este trabajo hemos usado el conjunto de funciones de base denominado 6-31G* desarrollado por Pople y colaboradores.

4.7. Modelos de disolvente: métodos implícitos de continuo

Existen dos formas de incorporar los efectos del disolvente. La más evidente es incorporar el disolvente de forma explícita añadiendo moléculas de disolvente a nuestro cálculo. Es evidente que mediante este procedimiento sólo unas pocas moléculas de la primera o segunda capa de solvatación pueden considerarse pues rápidamente el coste computacional se hace demasiado elevado. La otra posibilidad es considerar el disolvente de forma implícita como un sólido caracterizado por una constante dieléctrica (que depende del disolvente) en el que se crea una cavidad donde introducir nuestra molécula. No consideran de forma explícita, por tanto, moléculas de disolvente. Estos métodos se conocen como *métodos implícitos de continuo*. Estos métodos proporcionan resultados fiables a un bajo coste computacional. Es evidente que, sin embargo, no pueden ser aplicados en aquellos casos en los que una molécula de disolvente represente un papel relevante en el proceso químico (asistiendo una transferencia de protón, por ejemplo). Para el presente estudio los métodos implícitos son apropiados y hemos escogido dos de ellos ampliamente utilizados en la bibliografía: el método CPCM (Conductor Polarizable Continuum Model) y el método SMD (Solvation Model based on Density). Con el uso de estos modelos pretendemos obtener información acerca de:

- (1) La energía de solvatación de cada conformero, definida como la diferencia de energía libre de Gibbs de un conformero en fase gas y en disolución

$$\Delta G_{solv} = \Delta G_{disolución} - \Delta G_{gas}$$

Para el cálculo de la energía de solvatación hemos usado ambos modelos de disolvente.

- (2) Los cambios geométricos que induce el disolvente en los diferentes conformeros. Para este propósito hemos usado únicamente el modelo SMD.

4.8. Teoría de Átomos en Moléculas del Prof. Richard Bader

La teoría de la estructura molecular del Prof. Bader es un formalismo matemático que permite definir los conceptos de átomo en una molécula, enlace químico, y estructura molecular a partir del análisis topológico de la densidad electrónica de carga.

Las propiedades topológicas de la densidad de carga, $\rho(r)$, se establecen en función del número y clase de los puntos críticos (puntos de gradiente nulo $\nabla\rho(r) = 0$). Los puntos críticos se clasifican por el par (r, s) donde r representa el *rango* (número de valores propios de la matriz Hessiana de $\rho(r)$ no nulas en el punto crítico), y s la *signatura* (diferencia entre el número de valores propios positivos con respecto de los negativos)

Para el estudio que hemos realizado nos interesan los puntos de rango 3 ($r=3$) que a su vez se dividen en cuatro tipos en función del valor de la signatura, s :

- a) (3,-3). Máximo local. Se corresponde con máximos locales de $\rho(r)$ y se asocian a las posiciones de los núcleos.
- b) (3,-1). Punto de silla de primer orden (dos valores propios negativos y un valor propio positivo). Se corresponden con los denominados *puntos críticos de enlace* que aparecen entre dos átomos cuando entre ellos existe un enlace.
- c) (3, +1). Punto de silla de segundo orden (dos valores propios positivos y un valor propio negativo). Se corresponden con puntos críticos de anillo que aparecen en estructuras cíclicas.
- d) (3, +3). Mínimo local de $\rho(r)$. Se corresponden con puntos críticos de caja asociados a estructuras cíclicas tridimensionales, como el cubano.

Los más relevantes para el presente trabajo son los puntos (3,-1) o puntos críticos de enlace ya que caracterizan topológicamente la existencia de enlace químico entre dos átomos. O, dicho de otra manera, para saber si entre dos átomos existe o no un enlace todo lo que debemos hacer es buscar un punto crítico de enlace entre ellos. Este procedimiento nos permitirá caracterizar los enlaces intramoleculares en la dopamina protonada.

4.9. Análisis cinético: la ecuación de Eyring

En la última parte de este trabajo hemos realizado un pequeño estudio cinético. Para el cálculo de las constantes de velocidad hemos hecho uso de la ecuación de Eyring:

$$k = \frac{k_B T}{h} e^{\frac{-\Delta G^\ddagger}{RT}}$$

basada en la Teoría del Estado de Transición. La ecuación de Eyring tiene la misma forma matemática que la ecuación de Arrhenius y permite obtener constantes cinéticas conociendo la energía libre de Gibbs asociada al estado de transición. La exactitud de la ecuación de Eyring no es muy alta pero sí permite obtener relaciones fiables entre constantes de velocidad asumiendo que los parámetros pre-exponenciales son parecidos.

5. RESULTADOS

De acuerdo con el plan de trabajo, comenzaremos este apartado discutiendo el paisaje conformacional de la dopamina protonada en fase gas. En primer lugar, sin embargo, describiremos brevemente la nomenclatura utilizada para denominar los diferentes conformeros.

5.1. Numeración de los átomos y ángulos diedros en la dopamina

En la Figura 3 se muestran los átomos numerados en la dopamina y en la Figura 4 están representados los ángulos que definen la conformación de los posibles isómeros de la dopamina protonada. (Lagutschenkov, 2011)

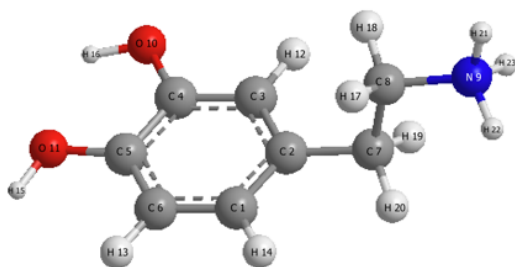


Figura 3. Numeración de los átomos que constituyen la dopamina.

Los ángulos diedros ϕ_1 y ϕ_2 definen la posición del grupo amonio. Para la conformación Gauche (g) en la que la cadena que contiene este grupo está plegada sobre el anillo aromático, ϕ_1 puede ser positivo (en el caso de que el grupo amonio esté orientado hacia el lado menos sustituido del anillo) o negativo (si tiene una orientación contraria a la anterior).

La dopamina también puede estar en conformación trans (t), en la que la cadena del grupo amonio está extendida de manera lineal.

Los otros dos ángulos diedros que se estudian son ϕ_3 y ϕ_4 que describen la orientación relativa de los grupos hidroxilo, que pueden encontrarse en 4 posiciones diferentes:

- 1) Ambos grupos OH se sitúan con los dos hidrógenos orientados hacia el lado menos sustituido del anillo aromático.
- 2) En este caso, aunque los hidrógenos de los hidroxilos también están orientados en el mismo sentido, se encuentran con la disposición contraria, es decir, hacia el lado más sustituido del anillo aromático.
- 3) Los hidrógenos se orientan de manera opuesta entre sí.
- 4) La disposición para los hidrógenos es enfrentada. En esta situación existe una repulsión espacial lo que obliga a ambos grupos hidroxilo a no estar en el mismo plano (4').

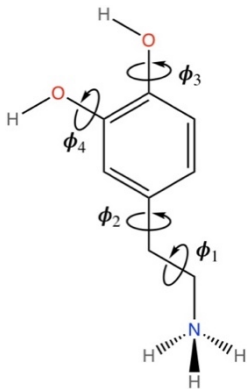


Figura 4. Ángulos diedros en la dopamina.

5.2. Dopamina protonada en fase gas

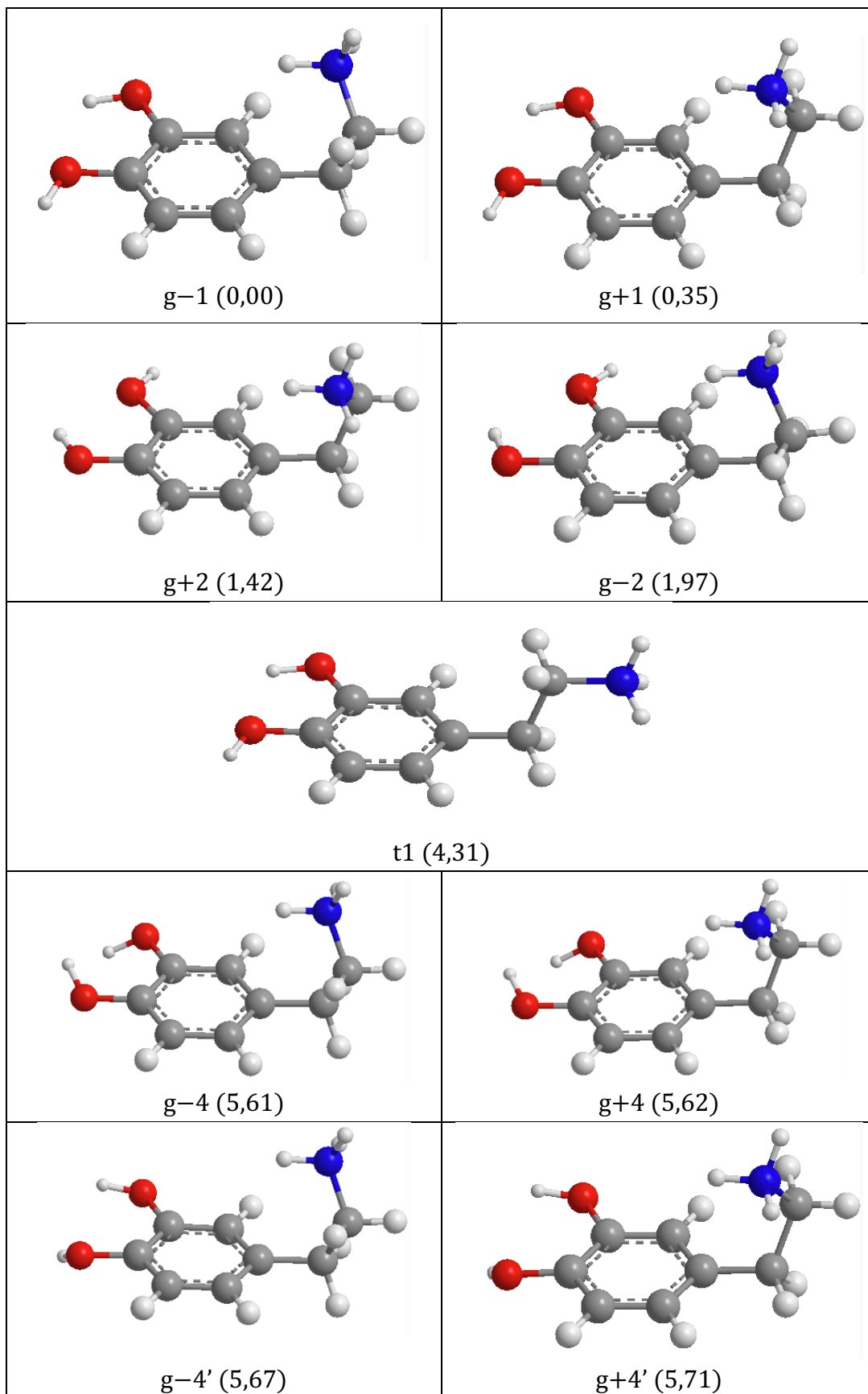
5.2.1. Posibles conformaciones de la dopamina protonada

El estudio se comenzó realizando un análisis conformacional mediante mecánica molecular, en concreto con el campo de fuerzas MMFF. En total se encontraron 15 conformeros diferentes que se muestran en la Figura 5. Las energías relativas se recalcularon a un nivel de cálculo un poco más preciso M06L/6-31G* y se muestra entre paréntesis en la misma Figura.

La estructura de la dopamina protonada presenta dos interacciones intramoleculares que estabilizan la molécula. Como puede observarse, las conformaciones más compactas (Gauche, g), en la que la cadena con el grupo amonio está plegada, produce una interacción con el anillo aromático que necesariamente provoca una estabilización de la conformación.

Esta cadena también puede adoptar la conformación extendida (trans, t), que imposibilita la interacción intramolecular del grupo amonio con el anillo aromático, por lo que estas conformaciones estarán más desfavorecidas energéticamente.

La otra interacción que interviene en la estabilización energética es la que existe entre los dos grupos hidroxilo, ya que pueden formar enlaces de hidrógeno intramoleculares. Como ya hemos mencionado, estas conformaciones se describen con los ángulos ϕ_3 y ϕ_4 .



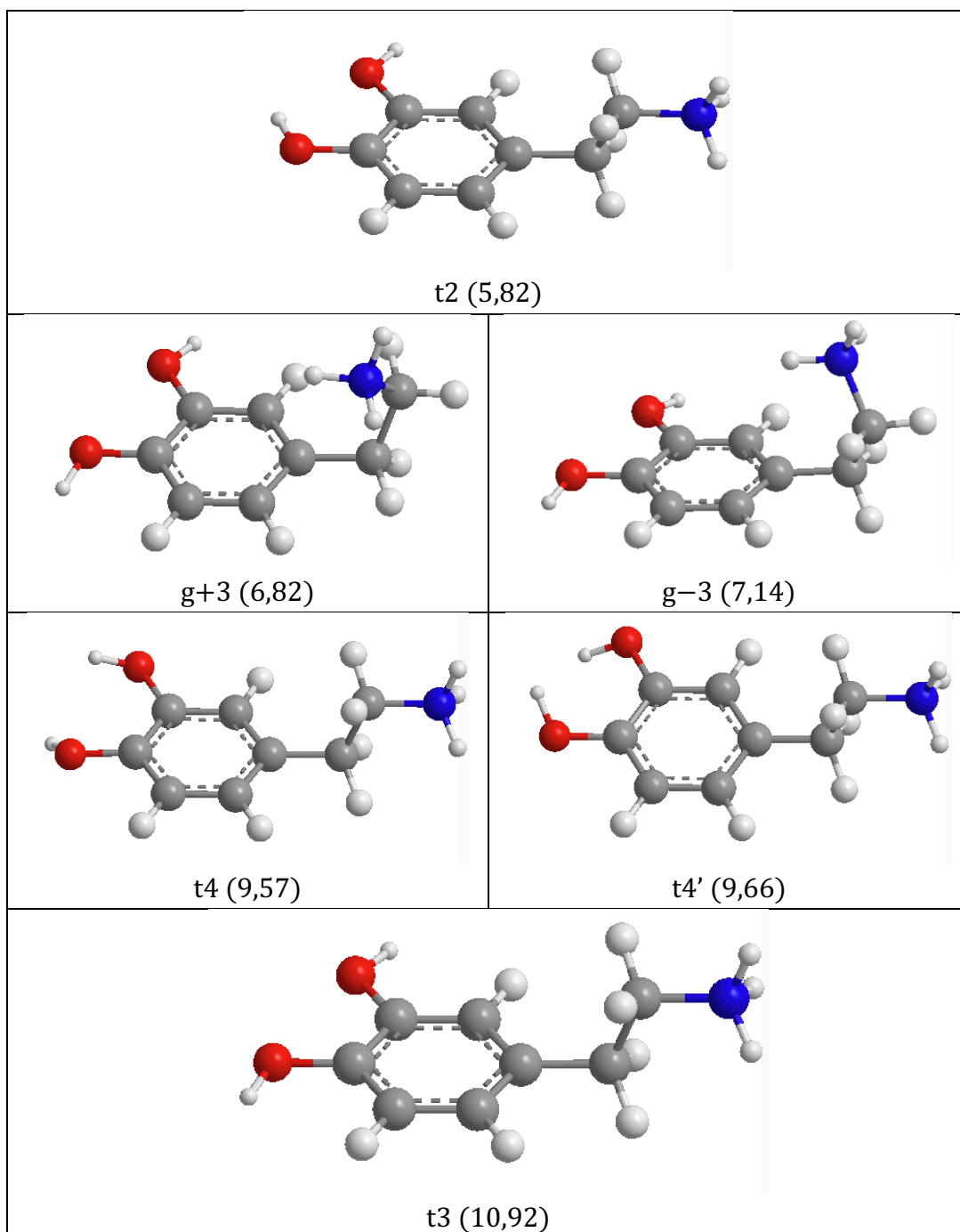


Figura 5. Conformeros de la dopamina protonada. Entre paréntesis, energías electrónicas relativas con respecto a *g-1* (en kcal/mol) obtenidas a nivel M06L/6-31G*.

Las 15 conformaciones obtenidas se encuentran en un rango de unas 10 kcal/mol. Las dos más estables, de tipo Gauche (**g-1** y **g+1**), son prácticamente isoenergéticas y se diferencian en la disposición del grupo amonio. Los siguientes confórmeros, también Gauche (**g+2** y **g-2**), tienen igualmente una estabilidad muy similar y se corresponden con los confórmeros **g-1** y **g+1** pero con la orientación contraria de los grupos hidroxilo. Esto sugiere que la disposición de los grupos hidroxilos es también un factor determinante en la preferencia conformacional estando los confórmeros de tipo 1 más favorecidos que los de tipo 2.

El quinto confórmero más estable es ya de tipo trans, **t1**, separado del confórmeros más estable por unas 4,3 kcal/mol. El resto de las conformaciones obtenidas se encuentran por encima de las 5 kcal/mol e incluyen al confórmeros **t2**, así como a confórmeros asociadas a orientaciones de los grupos hidroxilo de tipo 3 y 4.

5.2.2. Análisis energético de la preferencia conformacional

Una vez estudiados los 15 confórmeros obtenidos mediante el campo de fuerzas MMFF se seleccionaron las 6 conformaciones más estables para realizar un estudio más riguroso. El motivo de seleccionar un conjunto pequeño de conformaciones es debido al elevado coste computacional de los métodos utilizados. Como se comentó en el apartado de metodología, para esta fase del estudio hemos seleccionado los funcionales M06L, M062X, B3LYP y wB97XD junto con el método basado en la función de onda MP2. Estos métodos se combinaron con el conjunto de base 6-31G*.

El criterio para seleccionar los confórmeros en esta segunda fase del estudio fue establecer un límite de 5 kcal/mol. Dentro de este límite hay 5 confórmeros (**g-1**, **g+1**, **g-2**, **g+2** y **t1**). Adicionalmente seleccionamos la conformación **g-4** representativa de aquellos isómeros con grupos hidroxilo enfrentados. El confórmero **g-4** está por encima del más estable 5,61 kcal/mol. Los confórmeros con orientación de los hidroxilos tipo 3 no se tuvo en consideración al estar claramente desfavorecidos (por encima de 6,8 kcal/mol).

Sin embargo, al optimizar la geometría de **g-4** pudo observarse que acaba convergiendo a la conformación **g-2** (obteniéndose la misma energía relativa) por lo que **g-4** terminó descartando del estudio. Posteriormente veremos que la disposición tipo 4 de los hidroxilos se corresponde en realidad con estructuras de transición para la interconversión entre los conformeros 1 y 2, no con una disposición de equilibrio.

La Tabla 1 muestra las energías electrónicas relativas entre los cinco conformeros seleccionados de la dopamina protonada a los diferentes niveles teóricos considerados.

Las conformaciones **g-1** y **g+1** son las más estables, con una diferencia de energía entre ellas muy pequeña, por debajo de 0,5 kcal/mol. El siguiente par de conformeros, **g+2** y **g-2**, también están próximos entre ellos, aunque alejados de los dos más estables, entre 1 y 2 kcal/mol. **t1** está bastante más alejada en energía, sobre las 5 kcal/mol.

Para todos los niveles de cálculo se mantiene el mismo orden energético, con unas energías bastante similares. De hecho, todos los métodos predicen **g-1** y **g+1** prácticamente isoenergéticos. La principal diferencia entre las metodologías es la estabilidad de **t1** que aparenta estar subestimada tanto a nivel MMFF como con los métodos semiempíricos.

	MMFF	AM1	PM3	Mo6L	Mo62X	B3LYP	wB97xD	MP2
g-1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
g+1	0,35	0,34	0,41	0,42	0,34	0,25	0,27	0,32
g+2	1,42	1,59	1,37	1,13	1,31	1,18	1,33	1,34
g-2	1,97	1,81	1,57	1,97	2,16	2,29	2,20	2,28
t1	4,31	3,83	3,26	5,45	5,74	4,81	5,72	5,79

Tabla 1. Energías relativas electrónicas de los diferentes conformeros para la dopamina protonada en fase gas (kcal/mol). Métodos DFT (B3LYP, wB97xD, M06L, M062X), métodos semiempíricos (AM1, PM3), mecánica molecular (MMFF) y MP2. El conjunto de base es 6-31G*.

En la Figura 6 representamos los 5 conformeros más estables optimizados a nivel M062X/6-31G*. Puede observarse que están más estabilizadas si los 2 hidrógenos de los grupos hidroxilo están orientados en el mismo sentido.

Como comentamos más arriba, la conformación **g-4**, la 6ª más estable, sí se consideró para este estudio más preciso pues es el único conformero que tienen los hidrógenos orientados en distintos sentidos, pero al optimizar su geometría acaba convergiendo a **g+2** o **g+1** dependiendo del método de estudio y por ello fue descartado.

El grupo amonio estabiliza la molécula si está plegado en la conformación Gauche, ya que existirán interacciones con el anillo aromático (esto se analizará más adelante en el apartado 5.2.4). La única conformación que no presenta es interacción es la **t1** y por ello tiene una energía relativa bastante alejada de las 4 primeras.

Para el amonio en conformación plegada, la distancia que se muestra en la Figura 6 es la existente entre el hidrógeno y los carbonos más cercanos del anillo. Como puede observarse en la figura, las distancias más pequeñas C...H son bastante similares en todos los conformeros, sobre los 2,3 Å.

Con respecto de los grupos hidroxilos del ciclo la distancia entre un hidrógeno y el oxígeno del otro grupo OH son bastante similares para ambas orientaciones de los hidrógenos (2.12 Å) siendo más estable cuando ambos están dirigidos hacia el lado menos sustituido del anillo aromático (orientación tipo 1).

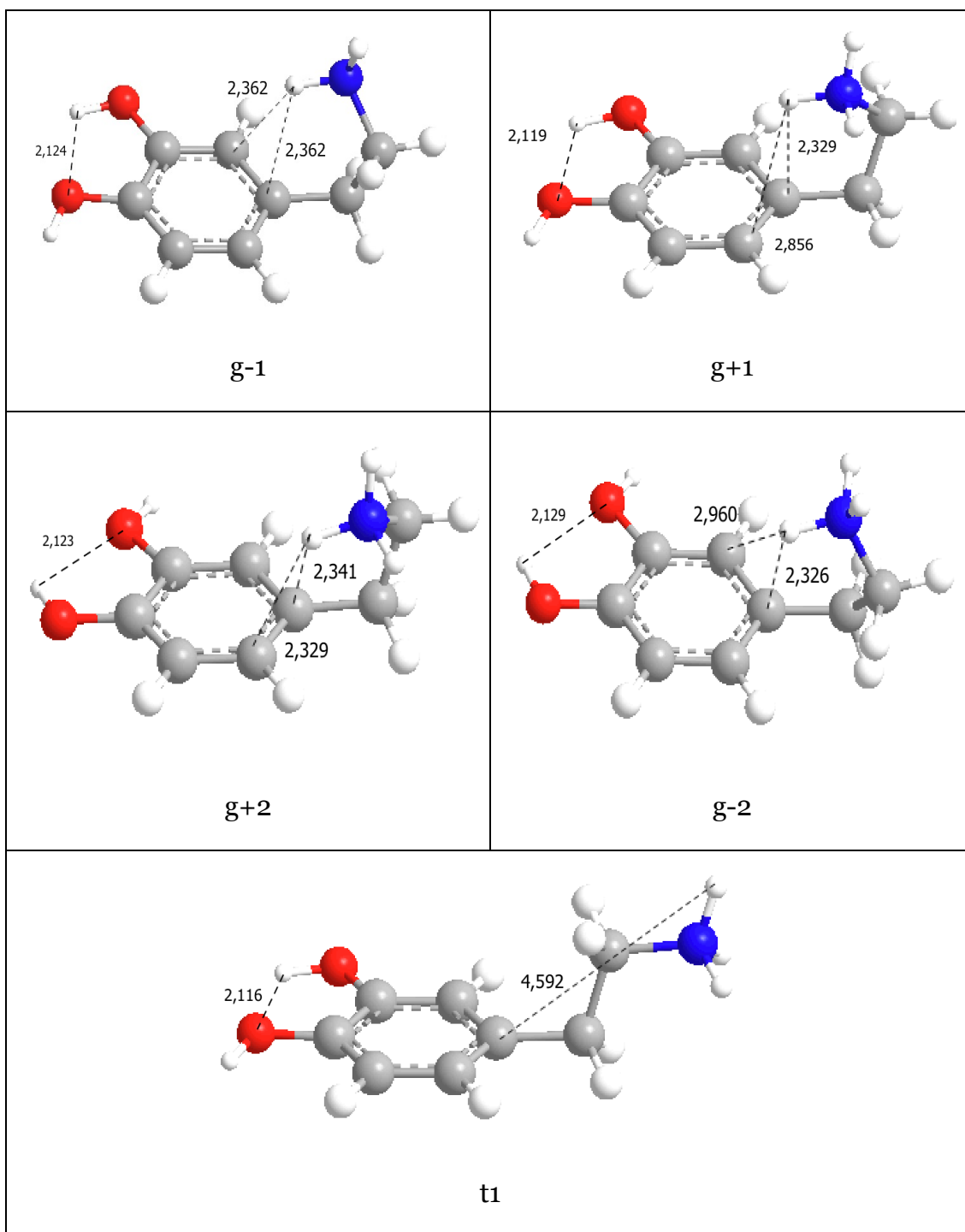


Figura 6. Conforméros de las geometrías más estables a nivel M062X/6-31G*. Distancias en Å.

5.2.3. Termoquímica y poblaciones relativas

Para la obtención de las poblaciones de Boltzmann y así saber qué conformero será el más poblado, hemos seleccionado dos niveles de cálculo de los usados en el apartado anterior: M062X y MP2.

La Tabla 2 muestra las energías electrónicas relativas así como las energías relativas incluyendo la energía vibracional del punto cero, las energías libres de Gibbs y las poblaciones de Boltzmann para los 5 conformeros más estables.

El hecho más llamativo de los resultados mostrados en la Tabla 2 es que las energías libres de Gibbs M062X no siguen el mismo orden de estabilidad con respecto del establecido por la energía electrónica. En concreto, **g-1** es más estable que **g+1** (por 0,29-0,34 kcal/mol) cuando consideramos energías electrónicas con o sin la energía del punto cero mientras que este orden de estabilidad se invierte cuando consideramos energías libres (-0,44 kcal/mol). A nivel MP2 este efecto es menos acusado, la separación entre los conformeros se reduce de 0,25-0,32 kcal/mol a 0,09 kcal/mol.

	ΔE		$\Delta E + EVPC$		$\Delta G (298 K)$		Población N	
	M062X	MP2	M062X	MP2	M062X	MP2	M062X	MP2
g-1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	30,74	48,36
g+1	0,34	0,32	0,29	0,25	-0,44	0,09	63,84	41,44
g+2	1,31	1,34	1,34	1,31	1,38	1,32	3,07	5,34
g-2	2,16	2,28	2,04	2,14	1,54	1,37	2,34	4,84
t1	5,74	5,79	5,75	5,41	5,32	4,76	0,004	0,02

Tabla 2: Energías relativas electrónicas ΔE (kcal/mol) con respecto a g-1 en distintos niveles de cálculo. $\Delta E+EVPC$, diferencias de la suma de la energía electrónica y la energía vibracional del punto cero (kcal/mol). ΔG , energía libre de Gibbs relativa (kcal/mol). N, poblaciones de Boltzmann (%)

Este cambio en ΔG se debe a un factor entrópico que hemos analizado en cierto detalle: el modo más bajo de vibración tiene una frecuencia asociada a nivel M062X que es claramente menor que la predicha por MP2. A efectos del cálculo de la entropía estas diferencias son importantes porque los modos de baja frecuencia son los mayores contribuyentes a la entropía vibracional. Ésto hace que la contribución a la entropía del modo más bajo a nivel M062X sea mucho mayor que a nivel MP2 y esto contribuye a la mayor estabilidad relativa de **g+1** con respecto de **g-1** con el primer método.

Este cambio en la entropía implica que las poblaciones de Boltzmann tampoco sean iguales en ambos niveles de cálculo, siendo la geometría más poblada **g+1** para M062X (63,64%) y **g-1** para MP2 (48,36%) aunque la siguiente más estable, **g+1**, también tiene una población elevada (41,44%).

El resto de confórmeros siguen el mismo orden de estabilidad esperado que se establecía con las energías electrónicas calculadas anteriormente, lo que hace suponer que el factor entrópico no será tan elevado.

5.2.4. Análisis de la densidad electrónica

El análisis topológico de la densidad electrónica de carga se llevó a cabo para las conformaciones más estables con el objetivo de buscar enlaces de hidrógeno o interacciones intramoleculares que explique la preferencia de la conformación Gauche y de la orientación de los hidrógenos. En la Figura 7 se recogen las densidades electrónicas para cada conformación estudiada. En color verde, se muestran los puntos críticos de enlace cuya interpretación se discutió en el apartado de metodología (4.8). En las figuras sólo se muestran los puntos críticos de enlace y no los puntos críticos de anillo para simplificar la figura y poder observar con mayor facilidad la posible formación de enlaces intramoleculares.

Como era de esperar, para los conformeros con disposición Gauche existe un enlace de hidrógeno entre en anillo aromático y el hidrógeno del grupo amonio más próximo, interacción que evidentemente está ausente en la conformación trans. Esta interacción intramolecular justifica la preferencia de la conformación plegada sobre la extendida.

Sin embargo, este estudio topológico no es útil para explicar la preferencia por la orientación de tipo 1 de los hidrógenos hidroxílicos, ya que (1) no existe una interacción intramolecular entre los hidroxilos y el grupo amonio que justifique su orientación relativa, y (2) incluso en el caso de que esta interacción existiera la diferencia energética entre una conformación y otra es muy pequeña como para considerarlo un factor determinante en la estabilidad del conformero.

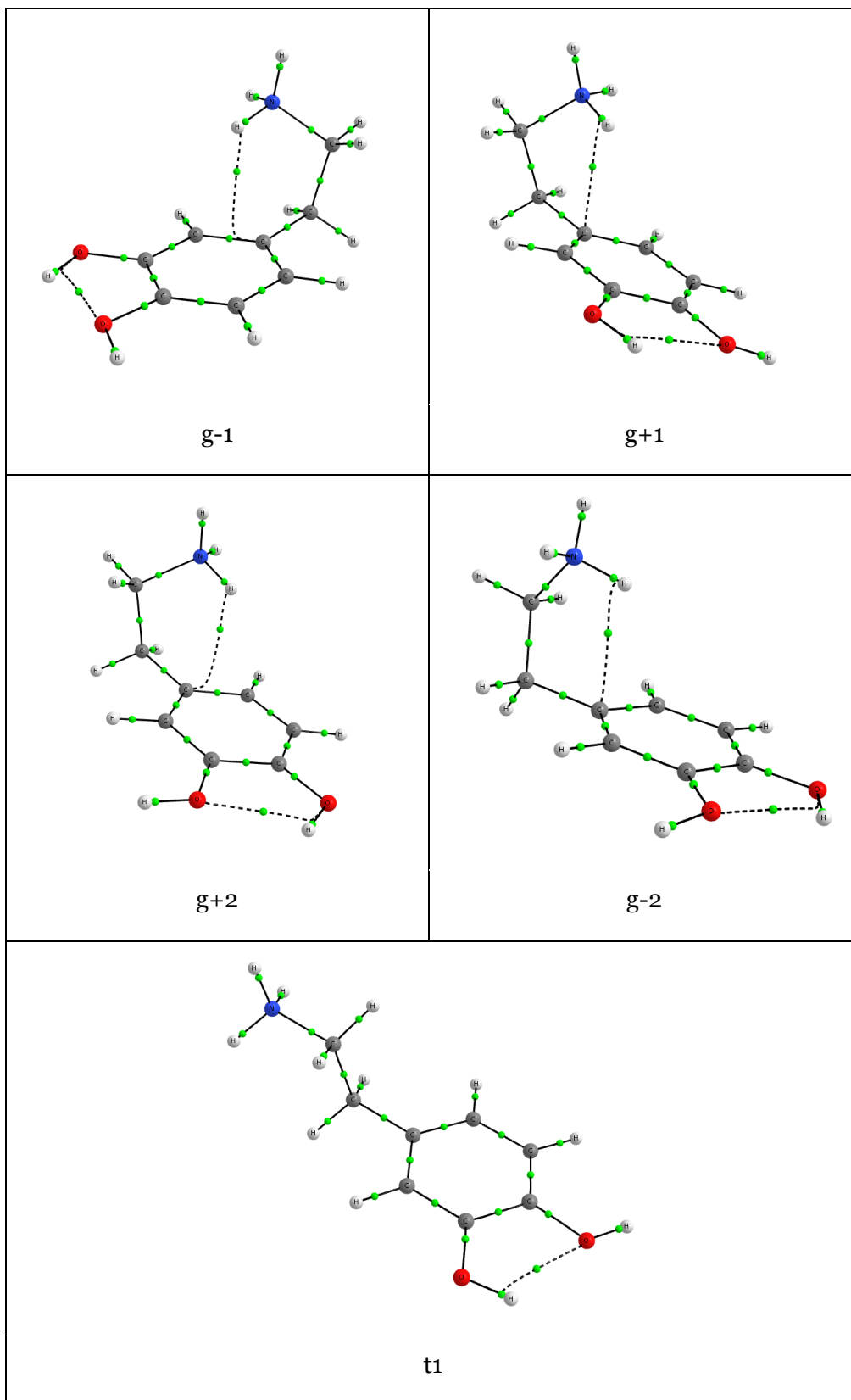


Figura 7. Análisis de la densidad electrónica para los 5 conformeros más estables de la dopamina protonada.

5.3. Estudio de la dopamina protonada en disolución

Continuamos en este apartado con el estudio conformacional de la dopamina en disolución, ya que es como se encuentra en el organismo y es ahí donde reside el interés de conocer su conformación más estable.

5.3.1. Energías de solvatación

Como disolvente para este estudio hemos escogido el agua. Continuaremos asimismo solo con los 5 conformeros más estables de la dopamina.

	ΔG_{solv} (CPCM)	ΔG_{solv} (SMD)	$\Delta G_{\text{solv}}^{\text{opt}}$ (SMD)
g-1	0,00	0,00	0,00
g+1	-0,16	-0,35	-0,39
g+2	-1,50	-1,35	-1,51
g-2	-1,61	-1,64	-2,13
t1	-6,57	-5,98	-4,10

Tabla 3: Energía libre de Gibbs de solvatación relativas ΔG_{solv} (kcal/mol) con respecto a g-1 para distintos métodos. Nivel de cálculo M062X/6-31G*.

En la Tabla 3 se recoge la energía de solvatación para las distintas conformaciones. Las dos primeras columnas muestran las energías obtenidas por los métodos CPCM y SMD usando las geometrías optimizadas en fase gas mientras que la tercera columna recoge las energías obtenidas sobre geometrías optimizadas en disolución.

Como puede verse de los resultados mostrados, la conformación más estabilizada en el disolvente es **t1**. Esto es seguramente debido a que la cadena con el grupo amonio está extendida, lo que facilita la aproximación de las moléculas de agua al grupo amonio y la solvatación se da con mayor facilidad que si la cadena se encuentra plegada, como ocurre en las conformaciones Gauche.

Para los distintos métodos se observan algunas diferencias en cuanto a las energías relativas entre ellas. Los tres modelos tienen en común que las 4 primeras conformaciones están

emparejadas con energías de solvatación muy similares y la 5ª se estabiliza notablemente más. Es interesante notar que para SMD^{opt} esta variación es mucho menor que para los otros 2 modelos de disolvente. El motivo es el siguiente: al permitir relajar la geometría en disolución los conformeros Gauche pueden readaptar su conformación a la presencia del disolvente (como se discutirá más adelante los conformeros se abren ligeramente). Esta relajación geométrica es menos eficaz en el conformero trans que tiene pocas posibilidades de relajarse geoméricamente. Por tanto, cuando el cálculo se realiza en disolución con relajación de geometría el conformero trans apenas varía su energía de solvatación (con respecto a la energía de solvatación estimada sobre la geometría en fase gas) mientras que los de tipo Gauche ven esta energía de solvatación aumentada. Este es el motivo por el que la diferencia de las energías de solvatación Gauche-trans disminuye con el modelo SMD^{opt}.

5.3.2. Poblaciones de los conformeros en disolución

Como hemos mencionado, al poner la dopamina en agua, la conformación **t1** se estabiliza más, ya que su ΔG_{solv} es más baja. A continuación, calculamos las energías libres relativas en disolución y las poblaciones de Boltzmann. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 4 junto con las energías libres relativas en fase gas (primera columna).

	ΔG_{gas}	ΔG_{disol} (CPCM)	ΔG_{disol} (SMD)	$\Delta G_{\text{disol}}^{\text{opt}}$ (SMD)	Población N
g-1	0,00	0,00	0,00	0,00	11,06
g+1	-0,44	-0,60	-0,74	-0,82	43,91
g+2	1,38	-0,12	0,00	-0,13	13,86
g-2	1,54	-0,07	0,02	-0,59	29,72
t 1	5,32	-1,25	-0,66	1,21	1,45

Tabla 4: Energía libre de Gibbs relativa ΔG (kcal/mol) con respecto a g-1 en fase gas y en disolución para distintos métodos. N, poblaciones de Boltzmann (%) calculadas para $\Delta G_{\text{disol}}^{\text{opt}}$ (SMD). Nivel de cálculo M062X/6-31G*.

Como mencionamos en la Tabla 2, la conformación **g+1** es la más estable con el método M062X en fase gas debido a un factor entrópico. Como vemos en la Tabla 4 en disolución esta preferencia conformacional se mantiene, siendo **g+1** más estable que **g-1** por 0,60-0,82 kcal/mol. Por otro lado, **g+2** y **g-2**, que estaban particularmente favorecidos en disolución, pasan a ser más estables que **g-1** (CPCM) o isoenergéticos (SMD).

Sin embargo, el resultado más interesante es la estabilidad relativa de **t1**. Como se comentó en el apartado anterior, las energías de solvatación mostraban una mayor estabilización para **t1** en disolución. Esto hace que con los modelos CPCM y SMD usando las geometrías en fase gas el conformero **t1** sea, de hecho, el más estable de todos. Sin embargo, para el método SMD^{opt} la energía de solvatación con respecto a las otras conformaciones no es tan grande, y

por eso al calcular la energía en disolución, **t1** no está tan estabilizada y, al igual que en la fase gas, vuelve a ser la menos estable con respecto a las otras conformaciones.

En comparación con las energías relativas de los conformeros en fase gas, en disolución la diferencia energética entre conformaciones es mucho más pequeña, lo que implica que las poblaciones de Boltzmann estén mucho más repartidas, siendo **g+1** la más poblada (43,9%) como ocurría en fase gas. A pesar de la notoria estabilización de **t1** en disolución acuosa su población es pequeña (sobre un 1%).

5.3.3. Geometrías en disolución

En la Figura 8 se han representado las geometrías de los 5 confórmeros más estables tanto en fase gas como en disolución junto con las distancias de entre el hidrógeno del grupo amonio con el carbono más próximo y con el carbono que une el anillo aromático con la cadena para ver como modifica su geometría la molécula al estar en disolución.

El aspecto más reseñable de los resultados mostrados en la Figura 8 es que, como puede observarse en la figura, las distancias aumentan entre 0,3 y 0,5 Å al estar en disolución para las conformaciones Gauche. Este aumento de la distancia entre el anillo aromático y el grupo amonio facilitaría la entrada de las moléculas del disolvente haciendo que la solvatación del grupo amonio sea más favorable.

Para el confórmero **t1**, en disposición trans, la geometría apenas cambia, ya que, al estar la cadena extendida, la solvatación ya es lo suficiente favorable y no tiene que deformar el confórmero.

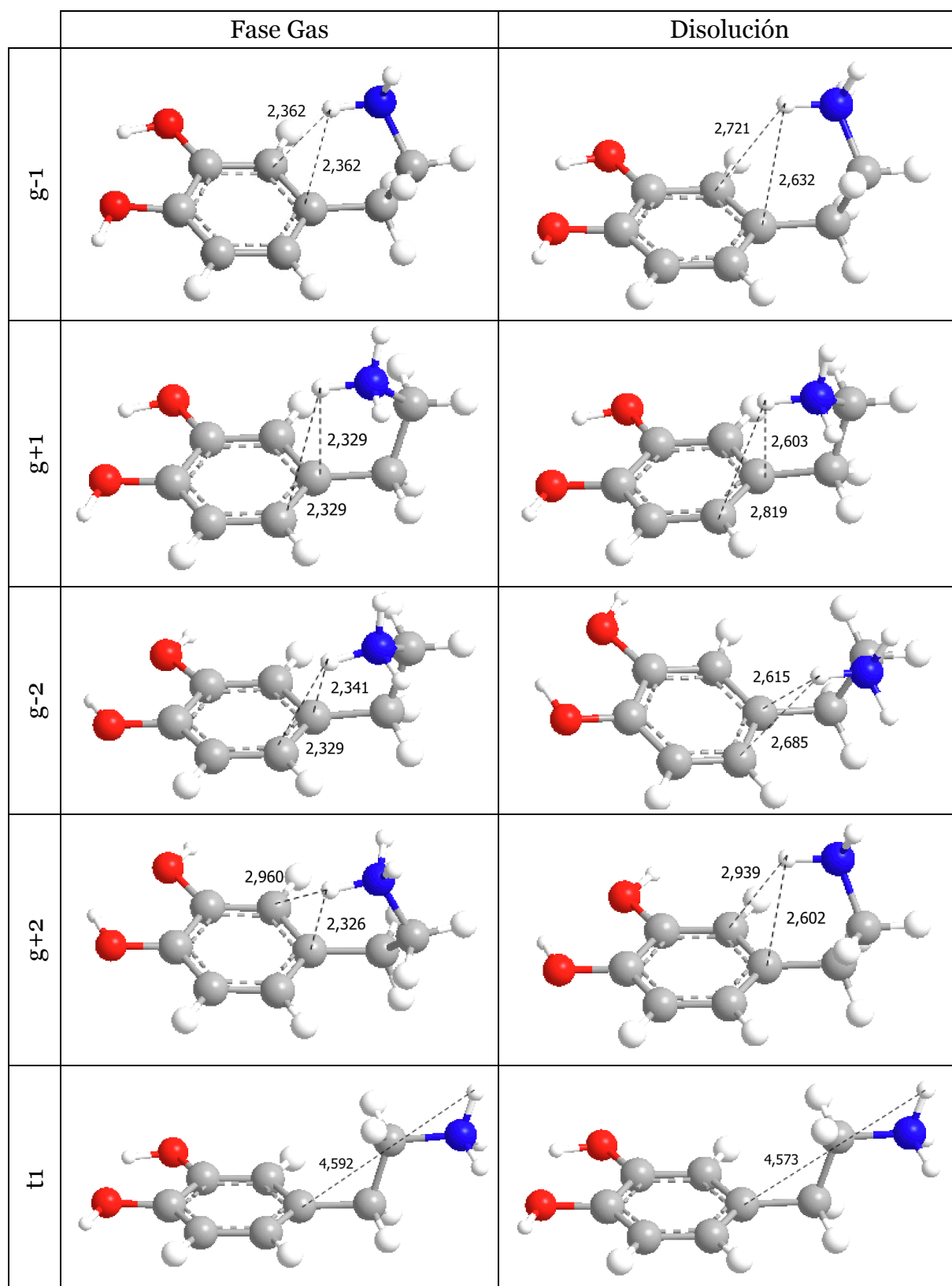


Figura 8. Comparación de los conformeros más estables a nivel M062X/6-31G* en fase gas y en disolución. Distancias en Å.

5.4. Estudio cinético

Para el estudio de los posibles estados de transición entre los confórmeros más estables, se consideró el cambio conformacional asociado a la orientación de los grupos hidroxilo, ya que el cambio del grupo amonio produce una diferencia de energía muy pequeña (las parejas de confórmeros son prácticamente isoenergéticos). Esto significa que las conformaciones de tipo Gauche con la misma orientación de los grupos hidroxilo van a estar necesariamente en equilibrio al igual que las conformaciones Gauche con la trans.

Las parejas de los confórmeros involucrados son (**g-1** → **g-2**) y (**g+1** → **g+2**). Por tanto, se buscaron los estados de transición que conectan estos confórmeros en la superficie de energía potencial tanto en fase gas como en disolución. Los perfiles de reacción se representan en las Figuras 9 (fase gas) y 10 (disolución acuosa).

Como comentamos anteriormente, las conformaciones **g-2** y **g+2** son más estables en disolución mientras que **g-1** y **g+1** son más estables en fase gas. Evidentemente, los estados de transición de interconversión entre ellos son los mismos. En las Figuras 9 y 10 todas las barreras de interconversión se dan con respecto al confórmero más estable.

El cambio conformacional comienza por el hidrógeno 15 (grupo hidroxilo en para con respecto de la cadena) que comienza a orientarse hacia arriba, provocando que el hidrógeno del otro grupo hidroxilo gire hacia abajo y se complete la transición. En el estado de transición se encuentran los hidrógenos con orientación enfrentada (conformaciones de tipo 4).

La principal conclusión de los resultados mostrados en las Figuras 9 y 10 es que las barreras de transición son mayores en fase gas que en disolución, por lo que predecimos que el cambio conformacional podrá darse con mayor facilidad en disolución.

Las barreras de transición son del orden de las 5 kcal/mol en fase gas y 3 kcal/mol en fase condensada. Estas barreras son relativamente elevadas debido al coste energético que supone romper los enlaces de hidrógeno intramoleculares.

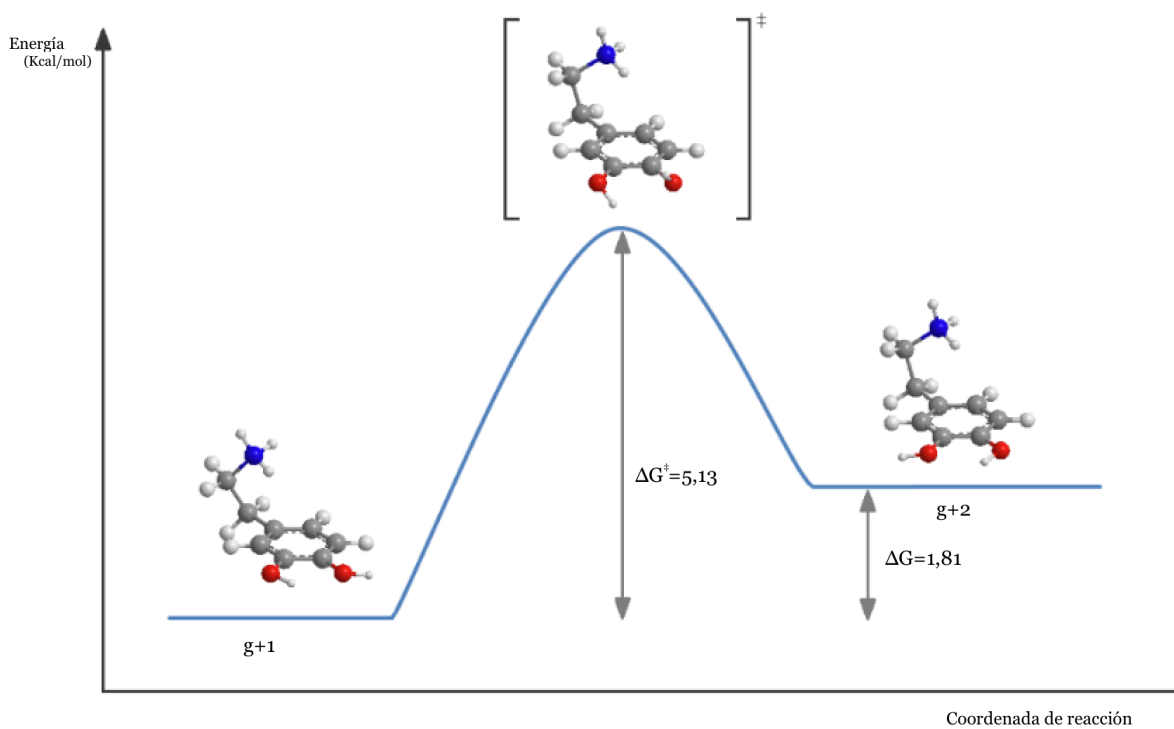
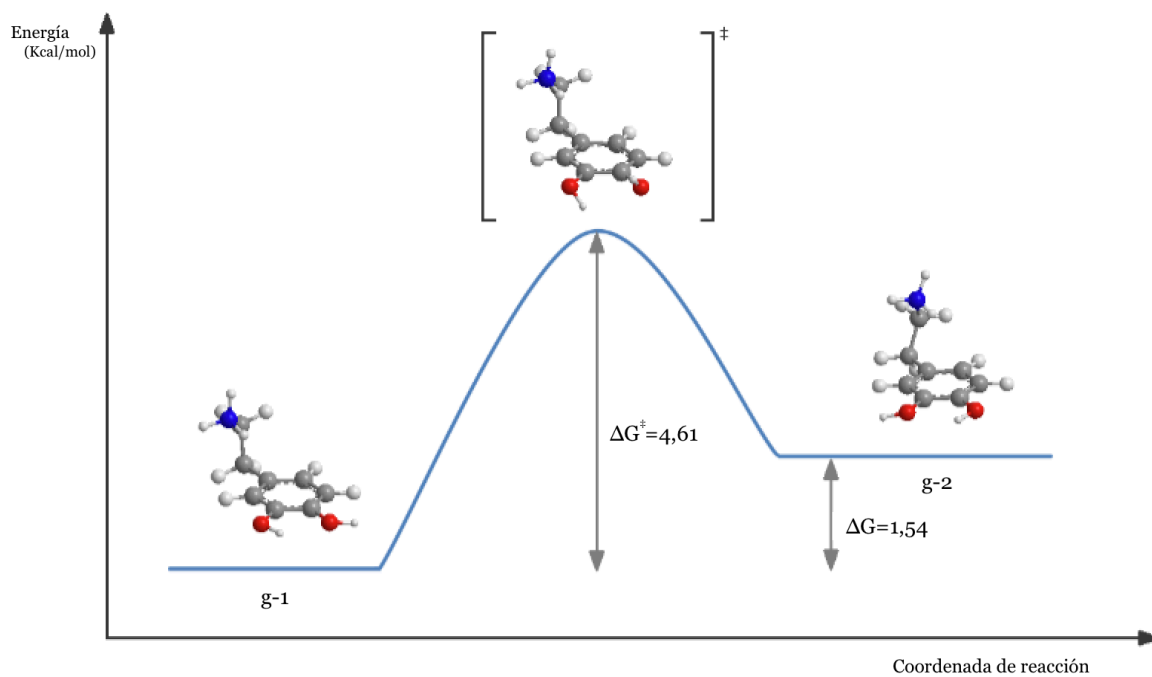


Figura 9. Estados de transición en fase gas, Energías ΔG (Kcal/mol) relativas con respecto al conformero más estable representado.

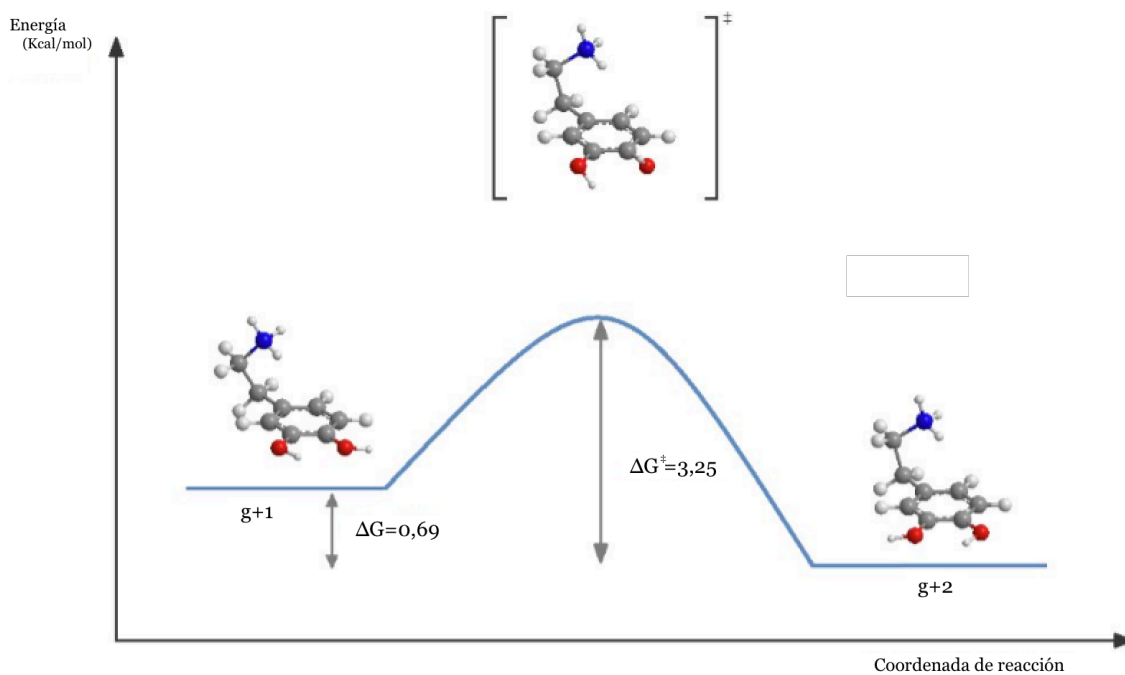
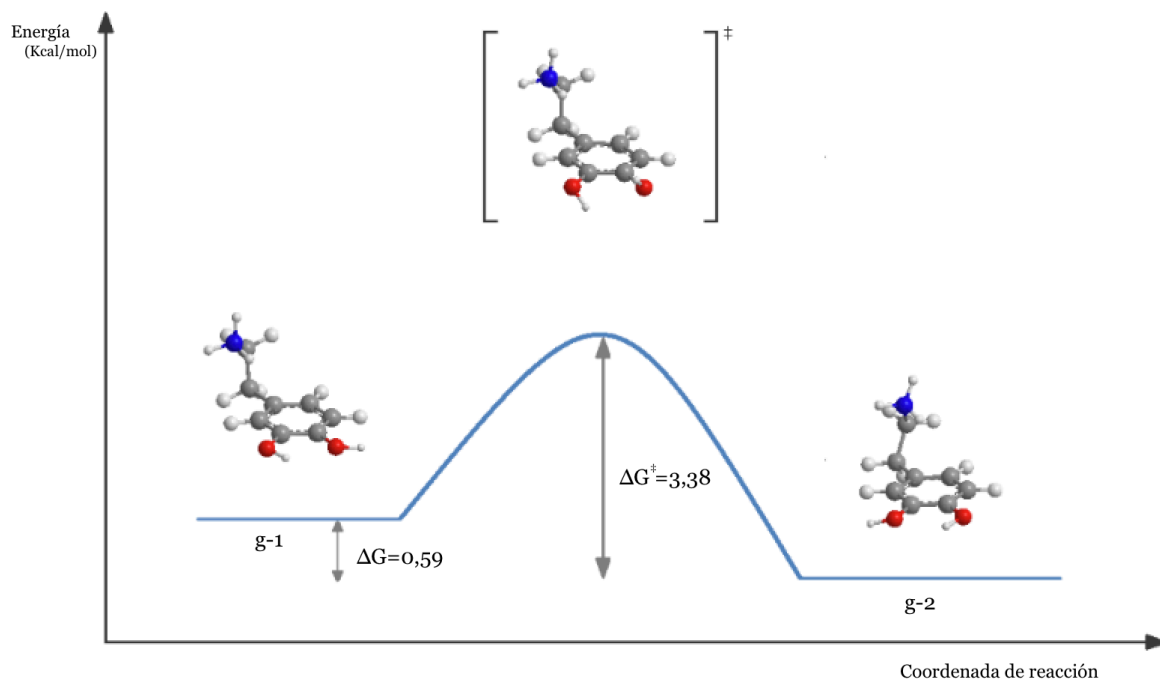


Figura 10. Estados de transición en disolución, Energías ΔG (Kcal/mol) relativas con respecto al conformero más estable representado.

A partir de las barreras de transición obtenidas se calcularon las constantes de velocidad asociadas a cada uno de los dos procesos y con ellas el tiempo de vida medio de la conformación más estable, asumiendo para las isomerizaciones reacciones de primer orden. Las constantes y los tiempos de vida medios se resumen en la Tabla 5.

		ΔG^\ddagger (298 K)	k (s ⁻¹)	$t_{1/2}$ (s)
Fase Gas	g-1 → g-2	4,61	2,598E+09	2,668E-10
	g+1 → g+2	5,13	1,070E+09	6,475E-10
Disolución	g-2 → g-1	3,38	2,083E+10	3,328E-11
	g+2 → g+1	3,25	2,580E+10	2,686E-11

Tabla 5: Energía de activación ΔG^\ddagger (kcal/mol) en fase gas y en disolución. Constantes de velocidad k (s⁻¹) y tiempo de vida medio $t_{1/2}$ (s). Nivel de cálculo M062X/6-31G*.

Los resultados recogidos en la Tabla 5 muestran que las constantes de velocidad son un orden de magnitud superiores en fase condensada que en fase gas, de acuerdo con las menores barreras de transición calculadas para el proceso de interconversión en disolución. Para ambos procesos, la interconversión en el conformero g- o g+, las constantes cinéticas son muy parecidas. La conclusión más interesante de este apartado es que los tiempos de vida medio son lo suficientemente pequeños como para asegurar un equilibrio conformacional entre conformeros. Hay que tener en cuenta, sin embargo, que la ecuación de Eyring es muy aproximada y que es necesario acudir a modelos teóricos más exactos para realizar predicciones más exactas.

6. CONCLUSIONES

Las conclusiones más relevantes que hemos alcanzado tras el desarrollo del presente Trabajo Fin de Grado son las siguientes:

- I. La dopamina protonada se presenta en dos posibles conformaciones principales: plegada (Gauche) y extendida (trans). Los grupos hidroxilo, por su parte pueden disponerse de 4 formas diferentes siendo aquellas en las que se puede formar un enlace de hidrógeno intramolecular las más estables. Las dos conformaciones más estables de la dopamina protonada, prácticamente isoenergéticas, son de tipo Gauche con los grupos hidroxilos orientados hacia el lado menos sustituido del benceno. Esas mismas conformaciones Gauche, pero con los oxígenos orientados hacia el lado más sustituido del ciclo son las tercera y cuarta conformación en orden de estabilidad situándose entre 1 y 2 kcal/mol por encima de la conformación más estable. Por otro lado, la conformación trans más baja en energía está desestabilizada con respecto al conformero más estable por unas 5 kcal/mol, con los grupos hidroxilos orientados hacia el lado menos sustituido del benceno.
- II. Es difícil determinar qué conformación es la más estable de la dopamina protonada puesto que las dos más bajas en energía son prácticamente isoenergéticas. Hemos comprobado también que los factores entrópicos son fundamentales para asignar el conformero más estable. Es, por lo tanto, necesario acudir a metodologías más sofisticadas para resolver completamente la preferencia conformacional de esta molécula.
- III. Para terminar con el estudio conformacional en fase gas, se realizó un análisis topológico de la densidad electrónica de carga para comprobar los posibles enlaces de hidrógeno, confirmando así que existen este tipo de interacciones intramoleculares entre los dos grupos hidroxilo y entre el grupo amonio y el anillo aromático. Esta última interacción explica la preferencia entre la conformación más plegada (Gauche) que la extendida. Sin embargo, este análisis no permite llegar a una conclusión clara por la preferencia entre una orientación u otra de los hidrógenos de los grupos OH.

- IV. Hemos realizado simulaciones en disolución acuosa concluyendo que el confórmero más estabilizado es el confórmero en disposición trans, que al tener la cadena con el grupo amonio extendido, se solvata con mayor facilidad.
- V. Al comparar las energías libres en fase gas y en disolución se observó que la diferencia entre las energías relativas es mucho menor en disolución, por lo que las poblaciones de Boltzmann están mucho más repartidas en este estado de agregación. Aun así, las cuatro conformaciones Gauche discutidas en la conclusión I siguen siendo las más estables, siendo la contribución de la conformación trans a la población total de un 1%. También se han comparado las geometrías de los distintos confórmeros y se observó que las distancias entre el grupo amonio y el anillo aromático son levemente mayores en disolución, lo que se explica por el efecto de las moléculas del disolvente al solvatar el grupo amonio.
- VI. Se realizó un estudio cinético de las barreras de potencial en el cambio conformacional de la orientación de los hidrógenos, siendo esta muy baja, lo que implica unas constantes de velocidad muy elevadas y un tiempo de vida medio corto, lo que permite una interconversión de un confórmero en el otro y, por tanto, que fácilmente se alcance un equilibrio conformacional.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Aliste M. P., Cassels B. K., 2001, *Computational study on the conformations of dopamine, its α - and ortho-methylated derivatives and their N-protonated forms*. J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2, **6**, 906-915
- Atkins P., de Paula J., 2008, *Química Física*. Ed: Panamericana.
- Bertrán J., Branchandell V., Moreno M., Sodupe, M., 2000, *Química Cuántica: Fundamentos y Aplicaciones Computacionales*. Ed. Síntesis.
- Callear S. K., Johnston A., McLain S. E., and Imberti S., 2015. *Conformation and interactions of dopamine hydrochloride in solution*. J. Chem. Phys. **142**, 014502
- Cramer, C.J., 2004, *Essentials of Computational Chemistry: Theories and Models*. Ed: John Wiley & Sons.
- Lagutschenkov A., Langer J., Berden G., Oomens J., Dopfer O., 2011, *Infrared spectra of protonated neurotransmitters: dopamine*. Phys. Chem. Chem. Phys. **13**, 2815–2823
- Levin I.R., 2004, *Fisicoquímica*. Ed: McGraw Hill.
- Nagy P.I., Alagona G., Ghio C., 1999, *Theoretical Studies on the Conformation of Protonated Dopamine in the Gas Phase and in Aqueous Solution*. J. Am. Chem. Soc. **121**, 4804–4815.

8. LISTADO DE TABLAS Y FIGURAS

8.1. Listado de tablas

Tabla	Descripción	Página
1	<i>Energías relativas electrónicas de los diferentes conformeros para la dopamina protonada en fase gas (kcal/mol). Métodos DFT (B3LYP, wB97XD, M06L, M062X), métodos semiempíricos (AM1, PM3), mecánica molecular (MMFF) y MP2. El conjunto de base es 6-31G*.</i>	33
2	<i>Energías relativas electrónicas ΔE (kcal/mol) con respecto a g-1 en distintos niveles de cálculo. $\Delta E+EVPC$, diferencias de la suma de la energía electrónica y la energía vibracional del punto cero (kcal/mol). ΔG, energía libre de Gibbs relativa (kcal/mol). N, poblaciones de Boltzmann (%)</i>	36
3	<i>Energía libre de Gibbs de solvatación relativas ΔG_{solv} (kcal/mol) con respecto a g-1 para distintos métodos. Nivel de cálculo M062X/6-31G*.</i>	40
4	<i>Energía libre de Gibbs relativa ΔG (kcal/mol) con respecto a g-1 en fase gas y en disolución para distintos métodos. N, poblaciones de Boltzmann (%) calculadas para ΔG_{disol}^{opt} (SMD). Nivel de cálculo M062X/6-31G*.</i>	42
5	<i>Energía de activación ΔG^\ddagger (kcal/mol) en fase gas y en disolución. Constantes de velocidad k (s^{-1}) y tiempo de vida medio $t_{1/2}$ (s). Nivel de cálculo M062X/6-31G*.</i>	50

8.2. Listado de figuras

Figura	Descripción	Página
1	<i>Estructura de la dopamina ($C_8H_{11}NO_2$)</i>	7
2	<i>Dopamina protonada ($C_8H_{12}NO_2^+$)</i>	9
3	<i>Numeración de los átomos que constituyen la dopamina.</i>	27
4	<i>Ángulos diedros en la dopamina.</i>	28
5	<i>Confórmeros de la dopamina protonada. Entre paréntesis, energías electrónicas relativas con respecto a g-1 (en kcal/mol) obtenidas a nivel M06L/6-31G*.</i>	31
6	<i>Confórmeros de las geometrías más estables a nivel M062X/6-31G*. Distancias en Å.</i>	35
7	<i>Análisis de la densidad electrónica para los 5 confórmeros más estables de la dopamina protonada.</i>	39
8	<i>Comparación de los confórmeros más estables a nivel M062X/6-31G* en fase gas y en disolución. Distancias en Å.</i>	45
9	<i>Estados de transición en fase gas, Energías ΔG (Kcal/mol) relativas con respecto al confórmero más estable representado.</i>	48
10	<i>Estados de transición en disolución, Energías ΔG (Kcal/mol) relativas con respecto al confórmero más estable representado.</i>	49