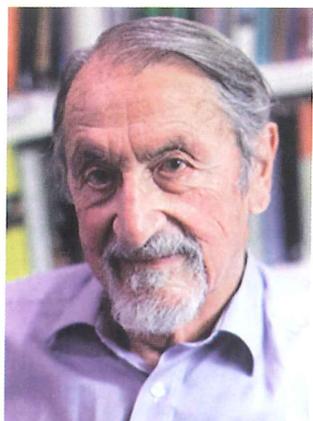


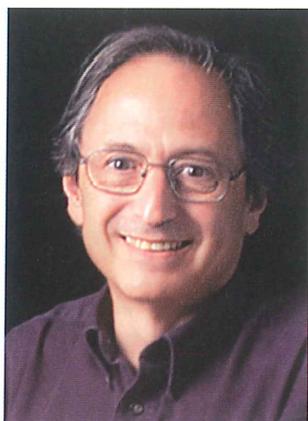
Premio Nobel de Química 2013

DESARROLLO DE MODELOS MULTIESCALA PARA SISTEMAS QUÍMICOS COMPLEJOS

Antonio Luis Doadrio Villarejo



Martin Karplus



Michael Levitt



Arieh Warshel

El 9 de octubre de 2013, la Real Academia Sueca de las Ciencias decidió conceder el Premio Nobel de Química 2013 a tres investigadores: Martin Karplus, Michael Levitt y Arieh Warshel, por el desarrollo de modelos multiescala de sistemas químicos complejos.

Estos tres científicos, químicos teóricos, sentaron las bases de los potentes programas informáticos que se utilizan para comprender y predecir reacciones químicas. Ellos desarrollaron en los años setenta, la química computacional avanzada que permite simular en ordenadores reacciones químicas complejas, incluso de sistemas biológicos.

Karplus, Levitt y Warshel, señalan que: “Los modelos de ordenador que imitan la vida real son cruciales para la mayoría de los avances de la química actual”.

Estos modelos avanzados que ellos empezaron a crear hace 40 años son herramientas predictivas, que permiten acercarse a la realidad y pueden establecer si

una reacción va a ocurrir o no, diseñar nuevos materiales o fármacos, conocer cómo responden determinadas proteínas a contaminantes o a fármacos, determinar las interacciones fármaco-receptor e innumerables aplicaciones más. Actualmente, estos modelos tienen tal poder predictivo que se pueden hacer experimentos de química en ordenador en lugar de en el laboratorio convencional, lo que ahorra tiempo y dinero.

El avance ha sido tan espectacular, que el químico ha pasado de representar los modelos de las moléculas construyéndolos manualmente con bolas (simulaban átomos) y tubos (enlaces) de plástico o madera a la química computacional en 3D. Y todo esto en los últimos 30 años.

Los tres científicos premiados tienen nacionalidad estadounidense, pero ninguno de ellos nació en su país de adopción: Karplus es austriaco; el británico Levitt, nació en Sudáfrica y Warshel, en Israel. El primero, es de la Universidad de Estrasburgo (Francia) y de la de Harvard; Levitt, de la Universidad de Stanford y Warshel, de la Universidad de California del Sur, en Los Ángeles.

Martin Karplus

Nacido en Viena en 1930 pero naturalizado estadounidense en 1945, se graduó en 1950 en la Universidad de Harvard, y obtuvo el doctorado tres años después en el Instituto Tecnológico de California. Con posterioridad, trabajó en las universidades de Illinois y Columbia para regresar en 1966 a la Universidad de Harvard, donde es actualmente profesor emérito de Química. Entre los premios que ha recibido se cuentan el Irving Langmuir en Física y Química de la Sociedad de Física Estadounidense (1987) y el ACS en Química Teórica (1993). Su labor científica incluye también el desarrollo de la ecuación de Karplus, muy relevante para los análisis conformacionales de moléculas orgánicas, y la aplicación de cálculos dinámicos clásicos a las reacciones químicas en fase gaseosa.

Michael Levitt

Nació en Pretoria (Sudáfrica) en 1947, aunque muy pronto se trasladó al Reino Unido. En 1968 se graduó en Física en el King's College de Londres, y se doctoró en Biofísica por la Universidad de Cambridge. Durante su actividad profesional ha pasado por instituciones como el Instituto Weizmann de Israel, en el que fue

profesor durante diferentes períodos entre 1970 a 1990. Levitt, que posee las nacionalidades británica, estadounidense e israelí, también trabajó en la Universidad de Cambridge antes de llegar en 1987 a la de Stanford, donde en la actualidad ejerce como profesor en la Facultad de Medicina. Fue pionero en Biología Computacional, estableciendo el marco teórico y conceptual en el que se basa esta especialidad, y ha desarrollado además modelos de media escala de grandes complejos macromoleculares.

Arieh Warshel

Nacido en Israel en 1940, trabaja actualmente como profesor en la Universidad del Sur de California. Se graduó en la Universidad de Haifa y obtuvo el grado de doctor en el Instituto Weizmann de las Ciencias. Continuó con su trabajo postdoctoral en Harvard. En 1972 regresó al Instituto Weizmann, donde permaneció cuatro años más, para unirse luego al departamento de Química de la Universidad del Sur de California.

Entre los principales logros de Warshel, que realizó la primera simulación dinámica molecular de un proceso biológico, figuran la elaboración de los modelos electroestáticos microscópicos para proteínas. Warshel, que posee pasaporte israelí y estadounidense, ha sido distinguido con el premio anual de la Sociedad Internacional de Biología Cuántica y Farmacología (1993) y con la medalla Tolman (2003), entre otros galardones.

■ **Introducción**

La química y la bioquímica han experimentado un rápido avance en los últimos 50 años, y los progresos conseguidos pueden aplicarse a todos los aspectos de estos dos campos, aunque, el correspondiente a la bioquímica es sin duda el más destacado. En la primera parte de esos 50 años, el tema donde se hicieron los mayores esfuerzos y donde se consiguieron los mayores descubrimientos fue en la determinación de la estructura de las proteínas.

Los métodos estándar para analizar la estructura de las proteínas han sido y son la cristalografía de rayos X o el análisis de parejas espín-espín obtenidos por la técnica de espectroscopia de RMN. Pero, estas técnicas no se podrían haber de-

sarrollado sin los potentes programas informáticos adecuados a ellas. Con el software se puede calcular la energía de la estructura a considerar, en base a cálculos mecano cuánticos de los potenciales electrostáticos, que describen la interacción entre los átomos en el sistema proteico. Y esto facilita las cosas, porque no hay bastante información experimental para determinar la estructura de ese sistema que se quiere estudiar. Sin embargo, la potencia de cálculo informático de los modelos teóricos sí que proporcionan la información necesaria para comprender estos procesos y es por ello, que han llegado a ser herramientas esenciales para el bioquímico y también para el químico experimental.

Durante las reacciones químicas, que se producen en fracciones de milisegundo, los electrones pueden seguir una ruta de transferencia que les conduzca de un átomo a otro. Esto ocurre necesariamente en las tres cadenas redox fundamentales para la vida: la fotosíntesis, la cadena respiratoria mitocondrial y el ciclo del nitrógeno del *Rhizobium*. Su seguimiento, es vital para entender el mecanismo de la reacción. De nuevo, este hecho resulta un reto difícil de abordar para la química clásica, porque es virtualmente imposible cartografiar experimentalmente cada pequeño salto en un proceso químico.

Sin embargo, con la ayuda de los modelos teóricos de los premiados con el Nobel de Química, los científicos han conseguido que se desvelaran esos procesos químicos, como se muestra en la figura 1, donde podemos apreciar la ruta de transferencia del electrón que se cede del citocromo c a la citocromo c peroxidasa.

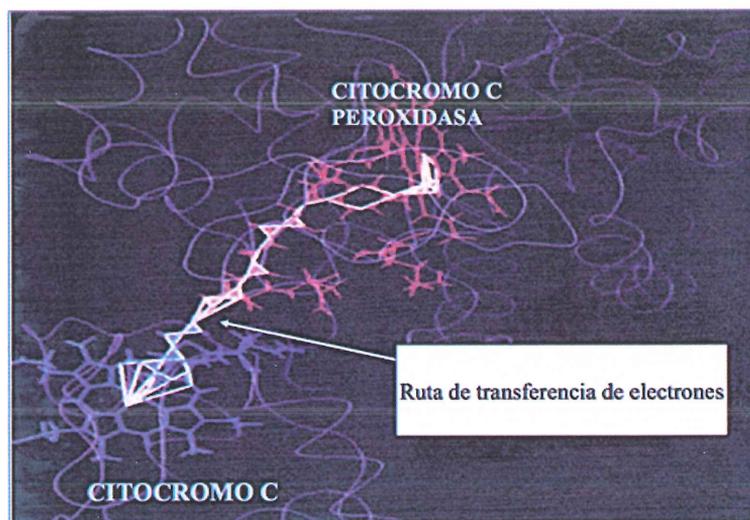


Figura 1. Ruta de transferencia de electrones entre el citocromo c y la citocromo c peroxidasa.

Los trabajos de Karplus, Levitt y Warshel son pues fundamentales, ya que lograron que la física clásica de Newton funcionase junto con la moderna mecánica cuántica. Y es así, porque sus modelos combinan las teorías modernas junto con la clásica, para simplificar los cálculos informáticos.

El primer paso en esa dirección lo dio Karplus, en la Universidad de Harvard, al que, en 1970, se le unió Warshel, que había trabajado con Levitt en Israel, utilizando un potente ordenador para desarrollar un modelo que basado en la física clásica podía construir todo tipo de moléculas, incluso moléculas biológicas grandes, utilizando cálculos mecano cuánticos. Allí, en Harvard, desarrollaron ese nuevo tipo de programa y publicaron, en 1972, sus resultados.

Por primera vez, habían logrado una cooperación química relevante entre la física clásica y la mecánica cuántica. Dos años después, Warshel se volvió a reunir con Levitt con el objeto de desarrollar otro programa que pudiera utilizarse para el estudio de enzimas, las proteínas que gobiernan y simplifican las reacciones químicas en los organismos vivos. Lo lograron en 1976, con la publicación del primer modelo computacional de una reacción enzimática.

Por otro lado, hoy en día el enfoque de la investigación química está más dirigido a la función que a la estructura.

Los químicos de ahora se preguntan: ¿cómo ocurre esto? En vez de: ¿qué parece esto? Las preguntas sobre la función son en general difíciles de responder utilizando técnicas experimentales.

En este desarrollo, el marcaje con isótopos y la espectroscopia de femtosegundos, pueden dar pistas, pero raramente producen evidencias concluyentes para un mecanismo dado, en sistemas con la complejidad que caracteriza muchos procesos químicos catalíticos y casi todos los procesos bioquímicos. Esto hace de nuevo, que los modelos teóricos sean una potente herramienta como complemento a las técnicas experimentales para el estudio de estos sistemas.

Los trabajos premiados con el Nobel de Química de este año se enfocan, pues, en el desarrollo de métodos que usan la teoría clásica y la mecánica cuántica, los cuales se utilizan para modelar sistemas, grandes reacciones químicas y complejos.

Como es conocido, los procesos químicos se caracterizan porque tienden a una configuración con la menor energía (libre) posible, que conecta el producto con los sustratos (reactantes) en un estado de transición. Normalmente este estado no es experimentalmente determinable por su complejidad, pero existen métodos teóricos aproximados para investigarlo. De nuevo, vemos que la teoría es un complemento necesario para la experimentación y que van cogidas de la mano.

En el modelo de la mecánica cuántica, los electrones y el núcleo atómico son las partes de interés para que un químico construya un modelo atómico o molecular. Sin embargo, en el modelo clásico (Bohr) lo son solo los átomos.

Por ello, los modelos cuánticos contienen más grados de libertad y también por ello es por lo que son más complejos que los de la química clásica y por tanto, son más precisos. La contrapartida es que requieren una mayor potencia de cálculo, lo que ya es posible en los modernos ordenadores.

Sin embargo, no era así con los ordenadores disponibles en el tiempo en que los galardonados empezaron a trabajar en estos modelos; de ahí su enorme mérito al concebir métodos para desarrollar modelos que describían parte de un sistema, utilizando la química cuántica y la clásica (mas fácil de simular en un ordenador), en donde se conectan la parte central de un sistema químico y la circundante. La primera parte se modela utilizando métodos de la mecánica cuántica y la segunda con la clásica.

La clave de su modelización fue mostrar cómo las dos regiones en el sistema modelado pueden disponerse para interactuar de una forma físicamente significativa. Además, el sistema molecular completo puede ser embebido en un medio dieléctrico. La representación de un sistema típico se muestra en la figura 2.

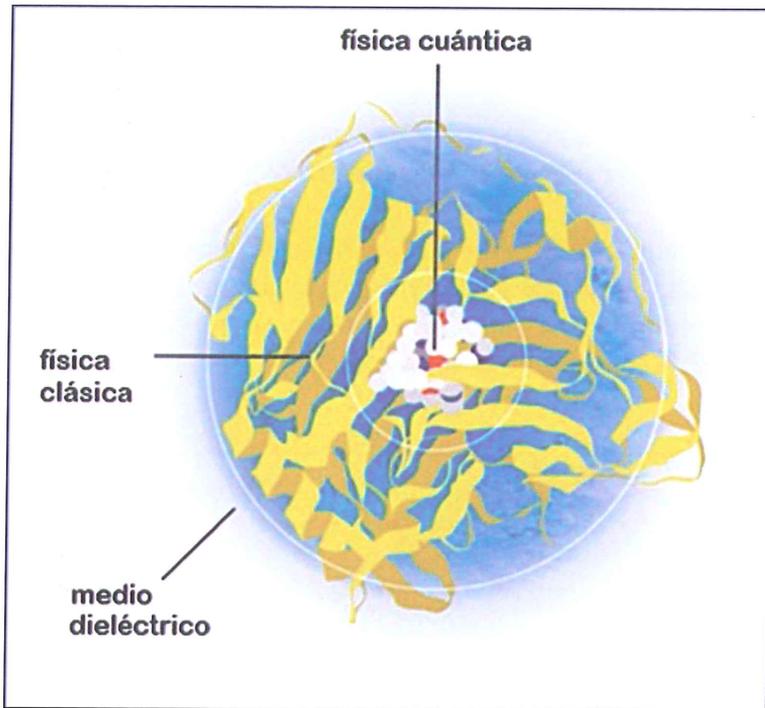


Figura 2. Multi cobre-oxidasa embebida en agua (Nobel Lecture, 2013).

Pero los modelos teóricos tienen que ser contrastados con los datos experimentales. En el caso de las biomoléculas, para verificar la realidad de sus estructuras simuladas, se recurre a la difracción de neutrones y a la de rayos X. Cuando se comparan los resultados de la difracción de neutrones con las simulaciones por ordenador en promedio, las distancias mencionadas deben coincidir.

Para obtener resultados más fiables y completos, hay que recurrir a la simulación de la dinámica molecular, donde se permite que átomos y moléculas interactúen por un período, permitiendo una visualización del movimiento de las partículas. Posteriormente, se compara el comportamiento de la biomolécula simulada con las propiedades de la misma observadas en el laboratorio.

Además, hay que tener en cuenta el comportamiento de las moléculas en un medio acuoso, ya que en muchos casos, es diferente el comportamiento de la molécula en una simulación en vacío que con moléculas de agua en el medio (el agua es un dipolo). Por ejemplo, la mayoría de las proteínas contienen al menos una hélice alfa (zona donde los aminoácidos componentes se enrollan y crean

una especie de muelle), que por elevación de la temperatura se desenrolla. Pues bien, en los primeros intentos de simulación de Levitt y Daggetde una hélice alfa sencilla en el vacío a temperaturas elevadas, la hélice alfa permanecía intacta. Solo después de añadir una caja de moléculas de agua en la simulación, lograron imitar el comportamiento de una hélice alfa real.

El modelo “hidratado” permite explicar mejor la dependencia con la temperatura en todos los casos para entender la dinámica molecular de las proteínas.

En la figura 3, mostramos una simulación de un modelo de mioglobina solvatada con agua.

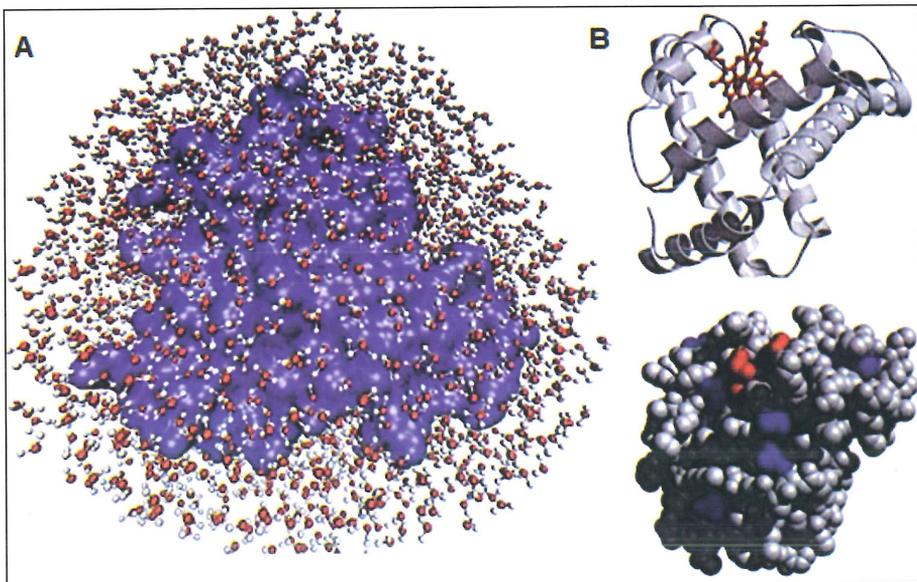


Figura 3. Simulación de una molécula de mioglobina solvatada en agua. **A.** Mioglobina rodeada de una capa de moléculas de agua, utilizada en las simulaciones por ordenador (Frauenfelder et al., 2009). **B.** Mioglobina como se estudia la molécula normalmente (Lehninger Principles of Biochemistry).

Las fluctuaciones del disolvente potencian y controlan los movimientos a gran escala y los cambios de conformación de la proteína. Además, los movimientos de la solvatación de la molécula potencian y controlan los movimientos internos de la proteína, como la migración de ligandos. En el caso de la mioglobina, estudiada por Hans Frauenfelder et al., la envoltura hidratada está formada por 2 capas de moléculas de agua, con más de 200 moléculas, y la versión no hidratada de la molécula no funciona. Más aún, durante la función proteica, la conformación de la

proteína no es única, sino que sufre importantes cambios, en gran parte influidos por las propias fluctuaciones del disolvente y de la solvatación.

■ **Perspectiva histórica**

La base teórica para el desarrollo de los programas informáticos de modelado molecular de los ahora premiados con el Nobel en Química 2013, se estableció a principios del siglo XX y fue objeto de cinco premios Nobel en Física: Planck en 1918, Bohr en 1922, Prince de Broglie en 1929, Heisenberg en 1932, y Schrödinger y Dirac en 1933.

Básicamente, los premiados con el Nobel en 2013, realizan su programación en dos sistemas, uno central y otro circundante.

Para el modelado de su sistema central, compuesto por la densidad electrónica de los átomos descrito por la mecánica cuántica, utilizan los métodos de Kohny Pople, premiados con el Nobel de Química en 1998, por el tratamiento de tales métodos. Kohn recibió el Nobel por el desarrollo de la Teoría Funcional de la Densidad y Pople por el desarrollo de métodos teóricos mediante los cuales se podían investigar las propiedades de las moléculas en los procesos químicos. La Teoría Funcional de la Densidad, permitió incorporar los efectos de la mecánica cuántica en la densidad electrónica (en lugar de mediante la función de onda), realizando una simplificación computacional.

Por su parte, el modelado del sistema molecular circundante, que establece el potencial intramolecular, se originó en 1946, cuando tres grupos independientes sugirieron un modelo basado en las interacciones de Coulomb y de van der Waals (Premio Nobel en Física en 1910). El grupo de Westheimer llegó a liderar este campo en aquellos tiempos, en los que no existían ordenadores.

Posteriormente, Allinger desarrolló un código informático y utilizó ordenadores para optimizar la estructura de moléculas, mediante el uso de potenciales empíricos clásicos, en una serie de métodos de mecánica molecular denominados MM1, MM2, etc. En estos métodos la energía del sistema se minimiza para obtener la estructura mas probable del sistema estudiado.

En esta línea, Némety y Scheraga utilizaron las ideas de Westheimer y Allinger y desarrollaron versiones simplificadas de sus potenciales, para el uso en

simulaciones mecánicas estadísticas y para minimizar la energía en estructuras proteicas.

En este momento, de forma aproximada, los métodos de la química cuántica ya empezaban a ser usados para la construcción de potenciales inter e intramoleculares para sistemas complejos. Investigadores destacados en este campo fueron Lifson y Warshel con el desarrollo del método *Consistent Force Field* (CFF). Por su parte, Levitt y Lifson fueron los primeros en utilizar tales potenciales para minimizar la energía de las proteínas. Otro ejemplo bien conocido de un potencial construido teóricamente, fue el denominado potencial MCYII para la interacción agua-agua. Este potencial estuvo basado completamente en cálculos de química cuántica, que se utilizaron para crear un potencial clásico con términos que describían las interacciones electrostáticas y de van der Waals.

La ventaja de los métodos clásicos basados en el potencial, es que la energía puede ser fácilmente evaluada y se pueden estudiar en grandes sistemas, con poca potencia de cálculo informático. El inconveniente es que solo se pueden utilizar para estructuras donde las moléculas que interactúan sean débilmente perturbadas. Por consiguiente, no pueden ser utilizadas para el estudio de reacciones químicas donde se van formando moléculas nuevas a partir de los sustratos reactivos. Por el contrario, los métodos de la química cuántica pueden ser utilizados para estudiar las reacciones químicas donde las moléculas se forman y se destruyen, pero son muy exigentes con respecto al tiempo de cálculo y al espacio de almacenamiento en el ordenador, por lo que se reduce su utilización a los sistemas más pequeños, al menos en la época de la que estamos hablando, ya que hoy en día con la potencia de cálculo de los nuevos ordenadores de varios núcleos y con los discos de estado sólido, se ha reducido drásticamente el tiempo de cálculo y se ha aumentado la capacidad de almacenamiento.

Los programas de mecánica molecular describen el entorno molecular, pero no resuelven el problema de decidir las propias conformaciones para dicho entorno, lo que permanece aún sin acabar de solucionarse.

Existen dos vías diferentes para intentar resolver este problema, una usada por Allinger en sus métodos MMX, que minimiza la energía del sistema y genera una conformación característica, y otra, la utilizada por Némety y Scheraga, que usan métodos mecánicos estadísticos, como *Molecular Dynamics* (MD) o *Monte Carlo* (MC). El método de Monte Carlo se aplica a sistemas moleculares para pre-

decir los valores promedio de las propiedades de estructuras en medios térmicos; estimar la distribución de cargas en moléculas; calcular constantes cinéticas de reacción, energías libres, constantes dieléctricas, coeficientes de compresibilidad, capacidades caloríficas y puntos de cambio de estado; etc. El método de Monte Carlo recibe este nombre porque consiste en introducir números aleatorios en el cálculo, lo cual permite simular efectos “térmicos”. En este sentido se distingue de la Dinámica Molecular (técnica determinística).

La importancia del trabajo de los tres laureados con el Nobel 2013, es debido a que sus programas son independientes de la estrategia usada para la elección de las configuraciones estudiadas. La concesión del Nobel de Química 2013 se ha enfocado en cómo han evaluado la variación en la energía del sistema real, de modo exacto y eficiente para sistemas donde los cambios relativamente grandes en la geometría o los cambios en la configuración electrónica en una pequeña parte del sistema estudiado, se encuentren fuertemente acoplados a un entorno que está solo débilmente perturbado.

Un medio de abordar este problema ha sido desarrollar un código eficiente de ordenador basado en la ecuación de Schrödinger que hace posible manipular sistemas del tamaño deseado. El planteamiento Car-Parrinello es la principal estrategia en esta línea.

Sin embargo, se exige todavía demasiado a los recursos de computarización, para que sean capaces de manipular los grandes sistemas necesarios para el modelado biomolecular o para que los sistemas supramoleculares amplíen su requerida exactitud. La solución al problema es que, en vez de combinar el modelado clásico de los entornos más grandes, se siga la línea sugerida por Westheimer, Allinger, Némety y Scheraga, con modelado químico cuántico de la región central, donde tiene lugar la reacción química más interesante.

■ Química en el ciberespacio

“La reacción química de la fotosíntesis, que se produce en las hojas verdes, llena de oxígeno la atmósfera y es un prerrequisito para la vida en la Tierra”. La Real Academia Sueca ha elegido este ejemplo para describir de qué es capaz la biocomputación avanzada de la que Martin Karplus, Michael Levitt y Arieh Warshel pusieron las bases. El proceso además, puede ser útil desde el punto de vista

energético. El primer paso del experimento de la fotosíntesis artificial consiste en realizar una imagen tridimensional de las proteínas que gobiernan la fotosíntesis. Son moléculas gigantes con decenas de miles de átomos, pero en el medio hay una pequeña región denominada centro o *sitio activo* de la reacción, que es donde las moléculas de agua se dividen en oxígeno e hidrógeno. Solo unos pocos átomos de la proteína están directamente relacionados con la reacción, principalmente: manganeso y calcio (en forma de iones) y oxígeno.

La imagen tridimensional muestra claramente cómo están dispuestos los átomos y los iones en relación unos con otros, es decir, describen la microsimetría local, pero no dice nada acerca de cómo se interrelacionan estos iones y átomos, lo que es vital para establecer un mecanismo de reacción. Y eso es lo que uno tiene que descubrir en el caber experimento químico.

Los detalles del proceso son virtualmente imposibles de visualizar con los métodos tradicionales de la química, porque se suceden en una fracción de milisegundo. Además, es difícil hacer conjeturas sobre los procesos de la reacción a partir de la imagen del ordenador porque esta se tomó cuando la proteína estaba en reposo, mientras que, cuando la luz del Sol ilumina las hojas, las proteínas de la fotosíntesis se llenan de energía y cambia toda la estructura atómica. Por tanto, es necesario establecer cómo es el estado completo de energía, para poder comprender el mecanismo de la reacción química.

Esto es lo que hacen los programas de ordenador que empezaron a desarrollar los galardonados con el Nobel 2013, porque si hasta entonces los modelos clásicos solo representaban las moléculas en estado de reposo, su trabajo ha permitido simular las reacciones mostrando el papel específico de los átomos en diferentes fases de la reacción.

El enfoque actual de estos métodos de simulación en modernos ordenadores, está permitiendo desarrollar la fotosíntesis artificial aplicando la nanotecnología, en nanotubos de carbono. Por el momento, un grupo de científicos de la Hebei Normal University of Science está en pleno trabajo, desarrollando este nuevo proceso que tendría grandes beneficios pues por un lado podría fabricar suficiente hidrógeno para crear la llamada “economía de hidrógeno”, una tendencia que vendría a reemplazar a los combustibles fósiles que se utilizan en coches y demás usos. Por otra parte la fotosíntesis artificial absorbería grandes cantidades de emisiones de carbono en la atmósfera. En la figura 4, vemos un modelado molecular de esos nanotubos.

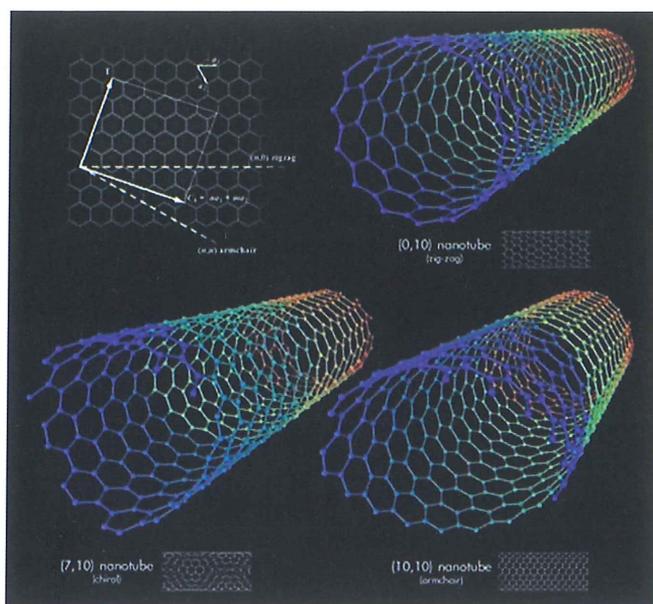


Figura 4. Simulación por ordenador de nanotubos de carbono empleados en la fotosíntesis artificial (<http://ecolosfera.com/fotosintesis-artificial-nanotubos-carbono/>).

■ Contribución de los tres galardonados

La descripción de un sistema químico y un sistema biológico se puede hacer *a priori*, con una gran precisión partiendo de las leyes de la mecánica cuántica, pero en la práctica, el cálculo es tan costoso que solo se puede hacer en sistemas relativamente pequeños. La aportación de Karplus, Levitt y Warshel, ha sido vislumbrar que la física clásica aproximándose a la física cuántica, podía lograr una buena descripción de los sistemas, con un coste computacional moderado. Sus trabajos han permitido ajustar las leyes clásicas para reproducir el comportamiento de los sistemas según las leyes cuánticas y, a partir de ahí, estudiar sistemas químicos y biológicos de enorme tamaño, obteniendo sobre ellos información de una calidad y detalle impensable hasta ahora.

La primera etapa en el desarrollo de un modelado multiescala fue ideada cuando Arieh Warshel visitó a Martin Karplus en Harvard a principios de 1970. Warshel había trabajado en potenciales inter e intramoleculares y Karplus poseía la necesaria experiencia en química cuántica. El objetivo fue estudiar moléculas similares al retinal. Este cromóforo, responsable de la visión animal había atraído la atención de

Karplus. Basándose en las ideas presentadas por Honig y el mismo Karplus; este y Warshel construyeron un programa informático que podía calcular, con excelentes resultados, el espectro del electrón situado en orbitales moleculares π y el espectro de vibración de moléculas planas. La base de este planteamiento fue que los efectos de los electrones de los enlaces σ y el del núcleo, fueran modelados usando una técnica clásica y que los efectos de los electrones π lo fueran usando un método PPP (*Pariser Parr Pople*) de química cuántica, corregido para obtener la superposición más cercana. La figura 5 muestra una molécula típica estudiada en ese trabajo.

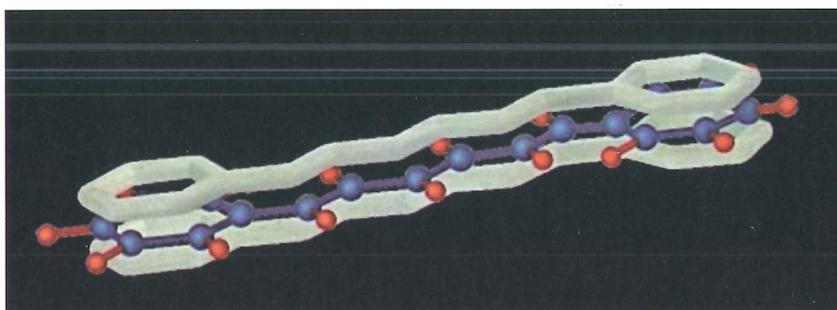


Figura 5. Simetría especular de la molécula de 1,6-difenil-1,3,5-hexatrieno estudiada por Karplus y Warshell (Honig y Karplus, 1971).

Este fue el primer trabajo que demostró que era posible construir métodos híbridos que combinaran las ventajas de los clásicos y los cuánticos para describir sistemas químicos complejos. Este método híbrido particular está restringido a sistemas planos donde la simetría hace una separación natural entre los electrones π que eran cuantizados y los electrones σ que eran manipulados por el modelo clásico.

Pero esta no era una limitación importante, como se demostró unos años más tarde en 1976. Por aquel entonces tuvo lugar la construcción de un esquema general para lograr una división entre los electrones que estaban incluidos en el modelo clásico y los electrones que estaban explícitamente descritos por un modelo de química cuántica, lo que fue explicado en *Dielectric, Electrostatic and Steric Stabilisation of the Carbonium Ion in the Reaction of Lysosyme*.

Sin embargo, algunos problemas fundamentales necesitaban ser resueltos para que funcionara tal procedimiento. Tenían que ser consideradas las condiciones energéticas acopladas que moderaran la interacción entre los sistemas clásico y cuántico, como también los acoplamientos entre las partes clásica y cuántica del sistema con el entorno dieléctrico. Warshel y Levitt demostraron que eso era posible.

El método general para el estudio detallado de las reacciones enzimáticas de la lisozima se describe a continuación.

El método considera un complejo único enzima-sustrato junto al solvente circundante y evalúa los diferentes factores de la mecánica cuántica y la energía mecánica que pueden afectar a la reacción. Estos factores incluyen las energías de mecánica cuántica asociadas con la rotura de los enlaces y redistribución de carga del sustrato y las energías clásicas de las interacciones electrostáticas entre el sustrato y el enzima.

La polarización electrostática de los átomos del enzima y la orientación de los dipolos de las moléculas de agua del entorno, está simulada por un modelo microscópico dieléctrico.

La energía de solvatación resultante de esta polarización es considerable y ha de ser incluida en cualquier cálculo realístico de reacciones químicas que implique algo más que una molécula aislada *en vacío*. Sin esto, los grupos ácidos nunca pueden ser ionizados y la distribución de carga del sustrato no será la real. El mismo modelo dieléctrico puede también ser usado para estudiar la reacción del sustrato en disolución. De esta manera, la reacción en solución puede ser comparada con la reacción enzimática. Estos principios, han sido la base para el estudio de la estabilidad del intermediario del ion carbonio formado en la rotura del enlace glucosídico por la lisozima. Se ha encontrado que la estabilidad electrostática es un factor importante que incrementa la velocidad de la reacción, que conduce a la formación del intermediario del ion carbonio. El sistema estudiado se muestra en la figura 6.

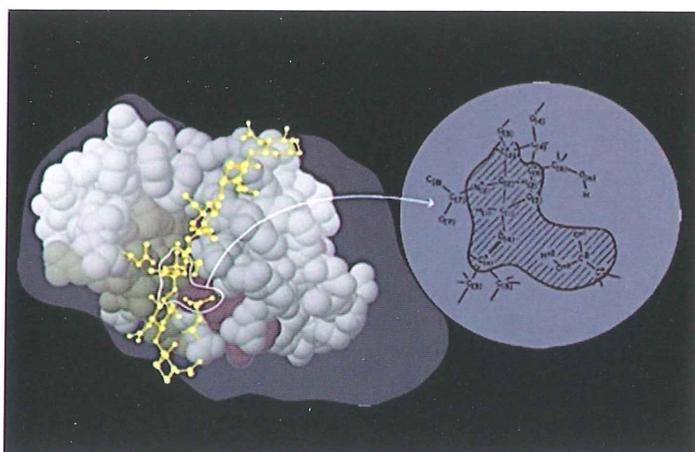


Figura 6. Para comprender cómo la lisozima rompe una cadena de glucosido, es necesario modelar solo las partes relevantes del sistema usando química cuántica, mientras que la mayoría del entorno que rodea a dicho sistema puede ser tratado usando mecanismos moleculares o un modelo continuo (Warshell y Levitt, 1976).

En el tiempo transcurrido entre la publicación de los artículos comentados anteriormente, otro importante avance, que ha hecho posible estudiar sistemas incluso más grandes, fue obtenido por Levitt y Warshel en su estudio del plegamiento de la proteína del páncreas bovino; el inhibidor de la tripsina (BPTI). El tipo de simplificaciones del sistema estudiado se muestra en la figura 7.

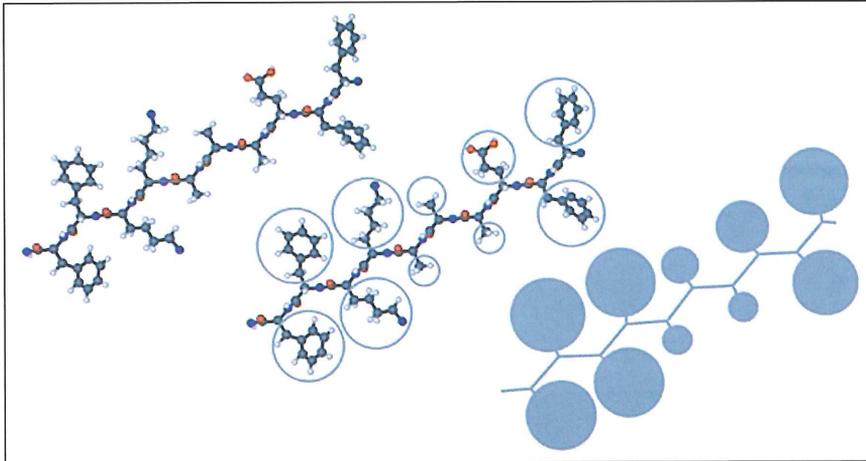


Figura 7. La estructura detallada de una cadena polipeptídica (arriba) se simplifica asignando cada residuo de aminoácido con un volumen de interacción (en medio) y lo resultante, una estructura tipo collar de perlas (abajo), se usa para la simulación (Nobel Lecture, 2013).

En este trabajo, fue estudiado el plegamiento de la proteína desde una conformación abierta a una conformación plegada, y pudo demostrarse que es posible agrupar átomos dentro de un sistema clásico en unidades rígidas, y tratar estas como *pseudoátomos* clásicos. Es obvio que estos experimentos han de acelerar el modelado de un sistema.

Como hemos comentado al principio, en otros ensayos, se ha recurrido a la difracción de neutrones y de rayos X para verificar el estudio por modelado molecular de biomoléculas.

En un experimento de difracción de neutrones se dirige un haz de neutrones sobre una muestra pequeña y se registra la difracción por moléculas que constituyen la muestra. Cada espacio entre las moléculas actúa a modo de una ranura diminuta, que crea un patrón de difracción característico. Al analizar estos patrones, se determina el intervalo entre las distintas moléculas. Cuando se comparan

los resultados de la difracción de neutrones con las simulaciones por ordenador, en promedio, las distancias mencionadas coinciden.

Y de esto se trata, de que el modelo teórico y el experimental sean lo más aproximados entre sí. De esta manera, se puede utilizar el modelo teórico como predictivo, pero la experimentación sigue siendo indispensable, aún hoy en día, como mínimo para validar el modelo teórico.

El modelo teórico se puede desarrollar antes de la experimentación o después. Por ejemplo, para confirmar la dinámica de una simulación molecular, se puede comparar el comportamiento de una molécula simulada con las propiedades de la misma observadas en el laboratorio y ver cuánto se aproxima a la realidad.

■ **Dinámica de las proteínas**

Las proteínas, como otras moléculas, no son una imagen fija en el espacio, no son estructuras rígidas, sino que se están moviendo y adoptando multitud de configuraciones. Tampoco los átomos ocupan posiciones fijas.

La cristalografía de Rayos X, si acaso, puede aproximarse a la estructura promedio de estas diferentes configuraciones, pero un tratamiento mecánico cuántico con el software apropiado si puede además de establecer una estructura promedio, representar a la proteína en distintos estados energéticos y por tanto establecer sus distintas configuraciones, lo que resulta un acercamiento más cercano a la realidad. El modelo teórico, también permite establecer las distancias atómicas promedio, que no son menos importantes que la estructura promedio (sirven de punto de partida de cualquier intento de elaborar descripciones más ajustadas de la actividad de la proteína). Un cristal listo para someterlo a análisis por rayos X viene a contener unas 10^{20} moléculas de proteína; sin embargo, resulta altamente improbable que, en un momento dado, ni siquiera una sola presente la estructura promedio.

Por ello, la imagen dinámica que nos muestra la simulación teórica en estos modelos, permite entender mejor los fenómenos que son inexplicables con otros modelos teóricos estáticos o con los datos instrumentales.

Naturalmente, que la imagen dinámica de los modelos derivan de otras fuentes, incluidas las instrumentales, en especial la cristalografía de Rayos X. Las posiciones cristalográficas no sirven, en principio, para configurar la estructura inicial, puesto que se trata de una estructura promediada, pero se realiza un procedimiento de equilibrado donde se ajustan las posiciones cristalográficas de los átomos de la proteínas (y los de todas las moléculas circundantes de solvente que quiera incluirse en la simulación), de modo que se relajen las fuerzas poco verosímiles, lo que sirve de punto de partida para aplicar el programa informático de construcción molecular.

Y, ¿por qué es importante estudiar la dinámica de las proteínas?

Pues, porque las proteínas tienen acciones enzimáticas, que dependen de las distintas conformaciones de aquella. En la figura 8 se muestra cómo la Carboxipeptidasa A (proteína de cinc de acción hidrolasa) debe de sufrir un cambio conformacional para poder albergar al sustrato (gliciltirosina).

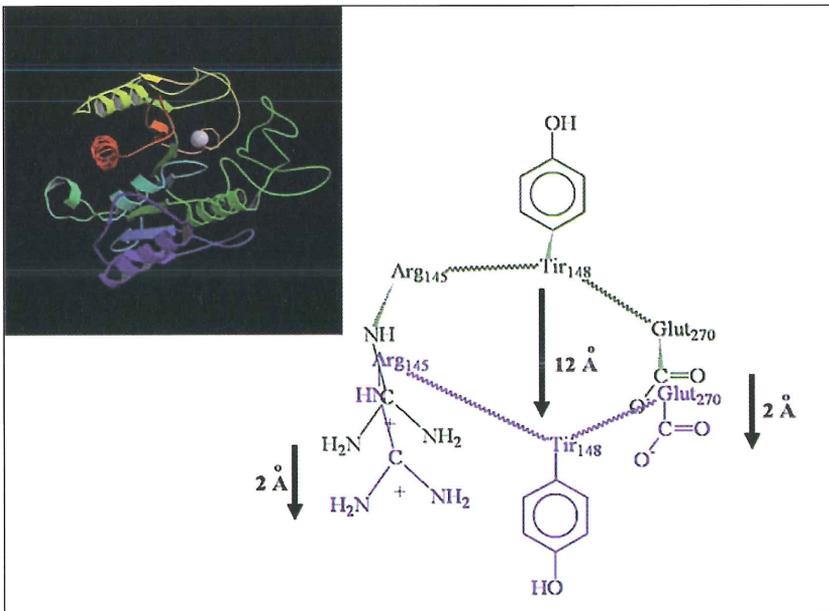


Figura 8. Carboxipeptidasa A. Desplazamiento de 12 Å de la tirosina 148 y giro de 180° y desplazamiento del glutámico 270 y de la arginina 145 de 2 Å para poder unirse a la gliciltirosina y realizar su acción peptidasa, dando lugar a glicina y tirosina. Forma en reposo en verde. Forma activa en azul. En la parte superior izquierda: representación en 3D de la Carboxipeptidasa obtenida por un modelo teórico (Protein Data Bank). El modelo de desplazamiento de la derecha es de producción propia (Doadrio, resultados no publicados).

Además, hay que tener en cuenta que en el caso de las metaloproteínas (donde el metal está en el sitio activo) la proteína, que se construye sin el metal, debe de albergar a este en el sitio activo y enlazarse mediante átomos (O, N, S) de los aminoácidos a él, por lo que es necesario en muchas ocasiones, que se produzcan cambios conformacionales dinámicos, para adaptar las distancias de enlace de los átomos proteicos al metal.

El desarrollo de los programas informáticos que dieron lugar a la comprensión de la dinámica de las proteínas es la aportación más importante del pionero Warshel.

Los programas informáticos de dinámica molecular, permiten superponer distintas configuraciones proteicas, tal como se muestra para la mioglobina en la figura 9.

Como cualquier proteína, la mioglobina es una cadena de aminoácidos (figura 9 en azul). Debido a la complejidad de los cálculos que llevarían mucho tiempo, el programa elabora la cadena en una versión simplificada que solo presenta la posición del átomo de carbono central de cada aminoácido. La cadena adopta una conformación plegada tridimensional, que le es característica.

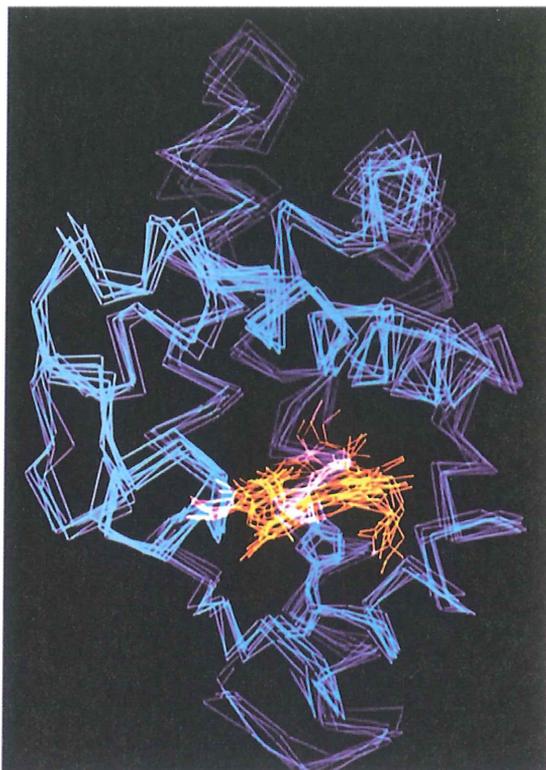


Figura 9. Superposición de siete posiciones adoptadas por una molécula de mioglobina a intervalos de cinco picosegundos, según propone una simulación de la dinámica molecular efectuada por ordenador realizada por John Kuriyan, de la Universidad de Harvard con el programa HYORA (Karplus y McGammon, 1986).

En la mioglobina, esa conformación consta de ocho segmentos de hélice alfa conectados por pequeños bucles de unos pocos aminoácidos. En la simulación, las hélices se mueven sin perder su forma. La molécula de mioglobina

contiene también un grupo hemo (color naranja), en cuya parte central se halla un Fe^{2+} capaz de unirse al oxígeno atmosférico para almacenarlo en el tejido muscular.

Claro que como cualquier problema, un sistema se puede complicar más, como ocurre en los procesos activados. En este caso, la simulación de la dinámica convencional muestra grandes carencias y no se puede aplicar.

Hay que construir nuevos modelos teóricos, que expliquen la mecánica del proceso, determinados factores como la velocidad a la que se produce. En estos modelos, se calcula la magnitud de la barrera energética que se opone a la transición y también se calculan las trayectorias de la molécula partiendo de configuraciones situadas en lo más alto de la barrera energética o en su vecindad, determinando así la configuración más probable de la molécula activada correspondiente a la energía de activación. De esta manera, se puede predecir la velocidad a la que transcurre la transición energética.

Podemos poner un ejemplo: la rotación de 180° de un anillo de tirosina. Hemos visto anteriormente que esto sucede en la Carboxipeptidasa A, pero también lo hace en el inhibidor de la tripsina pancreática de buey, al cual se le aplicó un tratamiento de dinámica activada.

La técnica de modelado dinámico empleada para entender este giro demuestra que la rotación del anillo tiene un movimiento colectivo, ya que es precedida por un desplazamiento de una sección de la cadena polipeptídica situada en una cara del anillo, que contribuye decisivamente en la rotación ya que reduce considerablemente la barrera energética que impide el giro. Vale de ejemplo de los procesos moleculares en los que las fluctuaciones estocásticas de una molécula de proteína permiten una transición conformacional brusca.

Y ya hemos visto en la carboxipeptidasa A, que ello tiene consecuencias en el mecanismo enzimático, que puede ser en la misma región o en otra.

En la figura 10 podemos ver la situación del anillo de la tirosina en el inhibidor de la tripsina pancreática y en la figura 11 el resultado de su rotación.

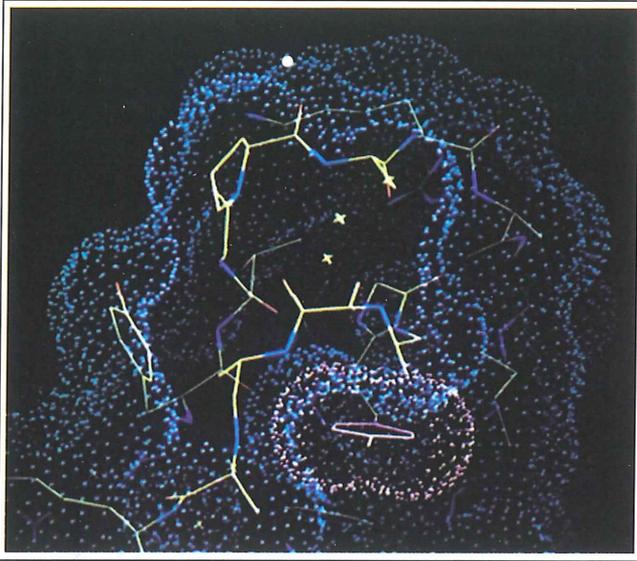
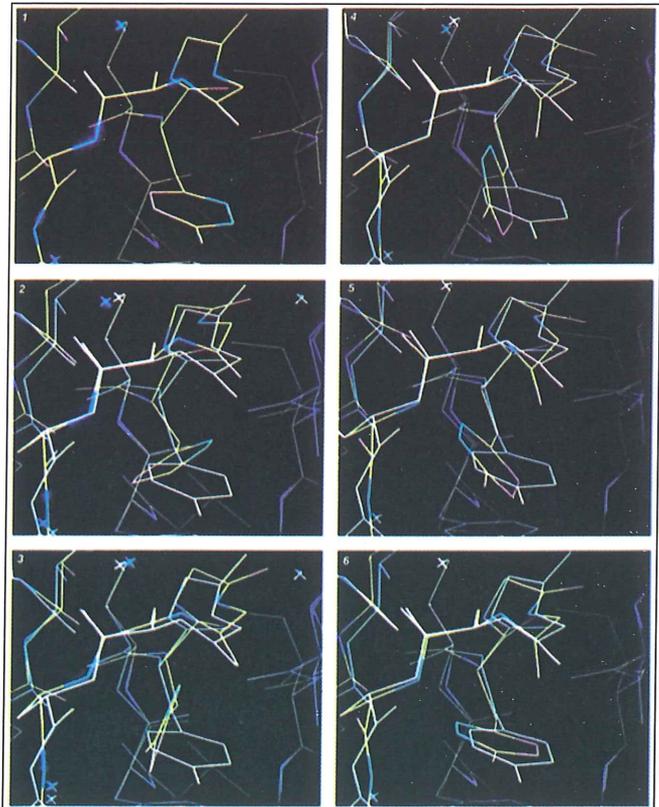


Figura 10. Anillo hexagonal de átomos de carbono que caracteriza la cadena lateral del aminoácido tirosina (magenta) situado en la región interna de la proteína denominada inhibidor de la tripsina pancreática de buey. La imagen muestra los enlaces que constituyen el anillo (líneas magenta), además de su superficie de van der Waals (puntos magenta), que encaja con gran precisión en la estructura estática de la proteína (puntos azules). De ser rígida la proteína, el anillo de tirosina no podría dar la vuelta, esto es, rotar 180° (Karplus y McCammon, 1986).

Figura 11. Rotación del anillo de tirosina en el interior del inhibidor de la tripsina pancreática. Se repite su posición inicial (1) en los pasos siguientes de la simulación para que sirva de referencia (hexágono blanco en 2-6). Al poco de iniciarse la simulación, el esqueleto se aleja del anillo de tirosina. Tal fluctuación abre un hueco que reduce considerablemente la barrera energética que en un principio se opone al giro; la colisión del anillo con los átomos que persisten en sus inmediaciones tiende a impulsar la rotación (Karplus y McCammon, 1986).



■ Modelos multiescala hoy

Los trabajos premiados en 2013 con el Nobel de Química, se consideran como el punto de partida para posteriores desarrollos teóricos de modelos y estudios aplicados más precisos. Muchas contribuciones importantes ya han sido realizadas, no solo por los premiados, sino también por otros grupos. La metodología ha sido utilizada para estudiar no solo los procesos complejos en química orgánica y bioquímica, sino también el cálculo teórico del espectro de moléculas disueltas en un líquido. Pero, lo más importante, es que se ha abierto una cooperación fructífera entre la teoría y el experimento, que ha hecho que muchos problemas hasta ahora insolubles, tengan solución.

Utilizando la adecuada combinación de física cuántica y clásica, y superordenadores, Karplus, Levitt y Warshel han contribuido, entre otros, a la comprensión de procesos biológicos tan complejos como el plegamiento y la funcionalidad de algunas proteínas, la reparación del ADN, el funcionamiento de maquinarias moleculares y la catálisis enzimática. También dieron un notable impulso al diseño por ordenador de fármacos y moléculas biológicas con nuevas propiedades.

Por todo ello, no es aventurado afirmar que, en un futuro no muy lejano, la química de laboratorio se vaya nutriendo cada vez más del poder predictivo de la química computacional y que, apoyada en el rápido desarrollo de los ordenadores, esta última pueda orientar e incluso reemplazar a multitud de experimentos exploratorios o de tanteo como los que se realizan en las fases iniciales de toda investigación en química.

Sin embargo, los cálculos de la dinámica molecular son los que más tiempo consumen y todavía tienen sus límites de cálculo informático. Esto sucede en el superordenador *Mare Nostrum* instalado en el *Barcelona Supercomputing Center-Centro Nacional de Supercomputación* (BSC-CNS) en Barcelona, España, y de hecho, en muchos otros superordenadores del mundo.

Se han fabricado, incluso, algunas de estas máquinas específicamente para los cálculos de dinámica molecular, lo que ha permitido observar las proteínas como maquinarias nanoscópicas en constante movimiento. Como un logro reciente de ese tipo de supercomputación química destaca el modelado completo del virus del sida, el VIH, con decenas de millones de átomos o la visualización del complejo proceso del plegamiento de proteínas.

Las simulaciones por ordenador aportan una información cada vez más rica sobre la estructura y función orgánica de las biomoléculas. Sin embargo, ello supone mantener una permanente batalla con las limitaciones técnicas de la computación y el coste de los superordenadores en el empeño por simular moléculas cada vez más complejas y en ambiente acuoso.

Todos los campos de la ciencia se han beneficiado de la metodología empleada por los premiados con el Nobel de Química 2013. La modelación molecular clásica o la dinámica, se están empleando constantemente en todos los campos del saber.

Como ejemplo de esta influencia, nuestro grupo está aplicando en la actualidad el modelado molecular para dilucidar el mecanismo de la cinética de liberación de fármacos en materiales mesoporosos ordenados. Se ha conseguido modelar un tubo de SBA15 (material mesoporoso ordenado de sílice) y simular las interacciones electrostáticas que se producen con el antibiótico vancomicina, lo que influye decisivamente en la velocidad de la cinética de liberación de dicho fármaco. En la Figura 12 se muestra una simulación del tubo de SBA15 con vancomicina.

Esta simulación molecular ha permitido explicar un hecho experimental, que la cinética de liberación de la vancomicina en SBA15 es mucho más lenta cuando se funcionaliza la matriz de SBA15 con cadenas de C18. El modelo molecular teórico demostró que las interacciones electrostáticas eran más intensas en el material funcionalizado que en el no funcionalizado, por lo que la retención en el tubo era mayor. Modificando pues, la naturaleza del material (SBA15), se puede controlar la liberación de la vancomicina, lo que supone un beneficio con aplicaciones farmacológicas en implantes expuestos a infecciones.

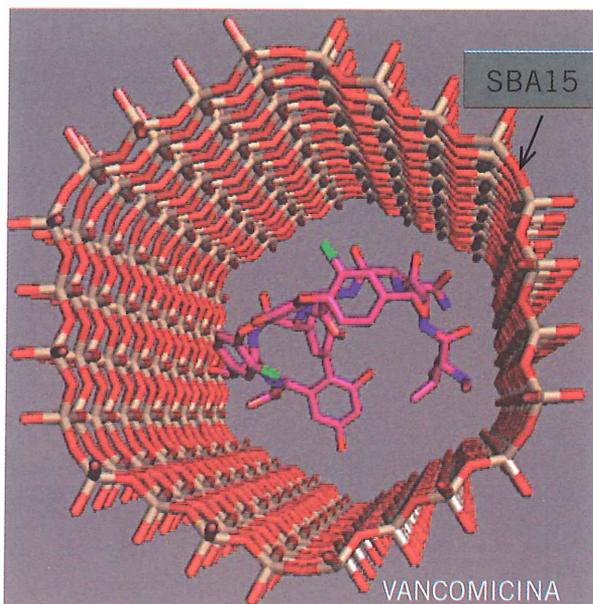


Figura 12. Simulación de un tubo de SBA15 con vancomicina en vacío (Doadrio *et al.*, 2010).

Por todo ello, en nombre de muchos investigadores, es obligado mostrar nuestro agradecimiento a los galardonados Martin Karplus, Michael Levitt y Arieh Warshel.

■ Agradecimientos

Quiero expresar mi reconocimiento a la inestimable ayuda prestada por D.^ª **Adoración Urrea Salazar** en la búsqueda de bibliografía y preparación de figuras.

■ Abreviaturas

BPTI. Inhibidor de la tripsina de páncreas bovino (*Bovine Páncreas Trypsin Inhibitor*).

CFF. *Consistent Force Field*. Campo de fuerza de segunda generación.

LFER. *Linear free energy relationship*. Relaciones lineales de energía libre.

MC. Monte Carlo.

MD. Dinámica molecular.

MMX. Software de modelado molecular de campo de fuerza.

NMR. Resonancia magnética nuclear.

PPP. Pariser-Parr-Pople. Método semiempírico de la mecánica cuántica para predicción de estructuras electrónicas.

QM/MM. Combinación de mecanismos cuánticos con mecanismos moleculares.

■ Bibliografía consultada

Allinger, N.L., Miller, M.A., Chow, L.W., Ford, R.A. y Graham, J.C. (1965). The Calculated Electronic Spectra and Structures of Some Cyclic Conjugated Hydrocarbons 1,2. *J. AmerChem Soc.* 87, 3430- 3435.

Allinger, N.L., Miller, M.A., Van Catledge, F.A. y Hirsch, J.A. (1967). Conformational analysis. LVII. The calculation of the conformational structures of hydrocarbons by the Westheimer-Hendrickson-Wiberg method. *J Amer Chem Soc.* 89, 4345-4357.

Car, R. y Parrinello, M. (1985). Unified approach for molecular dynamics and density-functional theory. *Phys Rev Lett.* 55, 2471-2474.

- Doadrio, A.L., Doadrio, J.C., Sánchez-Montero, J.M., Salinas, A.J. y Vallet-Regi, M. (2010). A rational explanation of the vancomycin release from SBA-15 and its derivative by molecular modelling. *Microporous and Mesoporous Materials*. 132 559-566.
- Field, M.J., Bash, P.A. y Karplus, M. (1990). A combined quantum mechanical and molecular mechanical potential for molecular dynamics simulations. *J Comp Chem*. 11, 700-713.
- Frauenfelder, H., Chen, G., Berendzen, J., Fenimore, P.W., Jansson, H., McMahon, B.H., Stroer, I.R., Swenson, J. y Young, R.D. (2009). A unified model of protein dynamics. *PNAS*.106 (13) 5129-5134.
- Frauenfelder, H. *et al.* (2009). A unified model of protein dynamics. *PNAS*, 106, 13.
- Frenkel, D. y Smit ,B. (1996). *Understanding Molecular Simulations*.Academic Press, San Diego, USA.
- Gerstein, M. y Chothia, C. (1996). Packing at the protein water interface *PNAS (USA)* 93, 10176-10172.
- Gerstein, M. y Levitt, M. (1999). El agua y las moléculas de la vida. *Investigación y Ciencia* 269, 58-63.
- Hill, T.L. (1946). Theory of multimolecular adsorption from a mixture of gases. *J ChemPhys* 14, 46.
- Honig, B. y Karplus, M. (1971). Implications of torsional potential of retinal isomers for visual excitation. *Nature* 229, 558-560.
- Kamerlin, S.C.L. y Warshel, A. (2011). Multiscale modeling of biological functions. *PhysChemChemPhys*, 13, 10401-10411.
- Karplus, M. y McCammon, J.A. (1986). Dinámica de las proteínas. *Investigación y Ciencia* 117, 18-28.
- Levitt, M. y Park, B.H. (1993). Water: Now you see it. Now you don't. *Structure* 1, 223-226.

- Levitt, M. y Lifson, S. (1969). Refinement of protein conformations using a macromolecular energy minimization procedure. *J Mol Biol.* 46, 269-279.
- Levitt, M. y Warshel, A. (1975). Computer simulation of protein folding. *Nature* 253, 694-698.
- Levitt, M. (1976). A simplified representation of proteins conformation for rapid simulation of protein folding. *J Mol Biol.* 104, 59-107.
- Levitt, M. y Sharon, R. (1998). Accurate simulation of protein dynamic in solution PNAS USA 85, 7557-7561.
- Lifson, S. y Warshel, A. (1968). Consistent Force Field for Calculations of Conformations, Vibrational Spectra, and Enthalpies of Cycloalkane and nAlkane Molecules. *J Chem Phys.* 49, 5116.
- Matsuoka, O., Clementi, E. y Yoshimine, M. (1976). CI study of the water dimer potential surface. *J Chem Phys.* 66, 1351.
- Messer, B.M., Roca, M., Chu, Z.T., Vicatos, S., Kilshtain, A.V. y Warshel, A. (2010). Multiscale simulations of protein landscape: using coarse-grained models as reference potentials to full explicit models. *Proteins* 78, 1212 -1227.
- Mukherjee, S. y Warshel, A. (2012). Realistic stimulation of the coupling between the promotive force and the mechanical rotation of the FO-ATPase. *PNAS* 109, 14876-14881.
- Nelson, D.L. y Michael, M.C. (2008). *Lehninger Principles of Biochemistry*. 5th ed. New York: W. H. Freeman and Company.
- Némethy, G. y Scheraga, H. (1965). Theoretical determination of sterically allowed conformations of a polypeptide chain by a computer method. *Biopolymers* 4, 155-184.
- Pariser, R. y Parr, R. (1953). A Semi Empirical Theory of the Electronic Spectra and Electronic Structure of Complex Unsaturated Molecules. I. *J Chem Phys* 21, 466.

Pople, J.A. (1953). Electron interaction in unsaturated hydrocarbons. *Trans. Faraday Soc.* 49, 1375 -1385.

Senn, H.M. y Thiel, V. (2009). QM/MM methods for biomolecular systems *Angew Chem Int Ed Engl.* 48, 1198-1229.

The Nobel Foundation (2013). Scientific background on the Nobel Price in Chemistry. The Royal Academy of Sciences. October 9, pp 1-10.

Warshel, A. y Karplus, M. (1972). Calculation of ground and excited state potential surfaces of conjugated molecules. I. Formulation and parametrization. *J Amer Chem Soc*, 94, 5612.

Warshel, A. y Levitt, M. (1976). Theoretical studies of enzymic reaction: Dielectric electrostatic and steric stabilization of the carbonium ion in the reaction of lysozyme. *J Mol Biol.* 103, 227-249.

www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/2013/advancedchemistryprize2013.pdf

www://francis.naukas.com/2009/03/05/el-agua-es-fundamental-para-entender-la-dinamica-molecular-de-las-proteinas/