



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**ESTUDIO COMPUTACIONAL SOBRE LA POSIBLE ACTIVIDAD
EDULCORANTE EN DERIVADOS ESTRUCTURALES DEL
ASPARTAME.**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO DE ALIMENTOS**

PRESENTA

JUAN SANDOVAL MOCTEZUMA



CDMX

2024



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: ÁVILA ZÁRRAGA JOSÉ GUSTAVO

VOCAL: ÁLVAREZ IDABOY JUAN RAÚL

SECRETARIO: ZÁRATE MARTÍNEZ ANA LILIA

1er. SUPLENTE: JIMÉNEZ SÁNCHEZ ARTURO

2º SUPLENTE: BAEZ FERNÁNDEZ MARCOS FRANCISCO

**TRABAJO REALIZADO EN EL LABORATORIO 205,
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA, EDIFICIO B,
FACULTAD DE QUÍMICA UNAM.**

ASESOR DEL TEMA:

DR. JOSÉ GUSTAVO ÁVILA ZÁRRAGA

ASESOR TÉCNICO:

ADRIÁN VÁZQUEZ SÁNCHEZ

SUSTENTANTE:

JUAN SANDOVAL MOCTEZUMA

ÍNDICE

Introducción	6
Antecedentes	7
Los sentidos	7
El sentido del gusto	10
Gusto salado	12
Gusto agrio	13
Gusto amargo	13
Gusto umami	14
Gusto dulce	14
Ingredientes tecnológicos	16
Coadyuvantes tecnológicos	16
Aditivos alimentarios	16
Clasificación de los aditivos alimentarios	17
Edulcorantes.....	21
Poder edulcorante	21
Aspartame.....	22
Síntesis del aspartame	23
Biotransformación del aspartame	24
Efectos a la salud	25
Modificaciones del aspartame	26
Teoría molecular del gusto dulce (AH/B/X)	26
Sitio de unión del aspartame	27
Estudios de acoplamiento molecular	28
Teoría del Funcional de la densidad.	29
Objetivos	32
Hipótesis	33
Metodología	34
Selección de complejos proteína-ligando y preparación del receptor.	34
Construcción de los ligandos propuestos y obtención de código SMILES.	35
Predicción de la posible actividad biológica de cada uno de los derivados estructurales del aspartame.	37
Acoplamiento molecular.	37
Cálculos de energía y optimización geométrica para cada ligando dentro del complejo ligando-proteína.	38
Resultados	40
Análisis de resultados	51

Conclusiones	61
Bibliografía	63
ANEXO I	67
ANEXO II	71
ANEXO III	73
ANEXO IV	76
ANEXO V	83
ANEXO VI	86

Introducción

Debido a la alta demanda de alimentos saludables y bajos en calorías en el mercado, la industria alimentaria se ha encontrado con el desafío de diseñar productos que cumplan con las expectativas de la sociedad tanto en cuestiones de aceptación como en aspectos nutritivos, por esto, el uso de aditivos alimentarios se ha visto incrementado en los últimos años. Los compuestos edulcorantes son de los más empleados para aumentar las alternativas de sustancias que puedan emplearse en productos con gustos dulces, en este trabajo se proponen once diferentes derivados estructurales del aspartame, para evaluar la posibilidad de ser considerados agentes edulcorantes viables para la industria y seguros para el consumo humano.

Los derivados estructurales fueron sometidos a estudios de acoplamiento molecular con el receptor metabotrópico del glutamato subtipo 1 (mGluR1), se compararon los parámetros obtenidos para cada uno de los diferentes complejos proteína-ligando y con base en los resultados se propone al N-(L- α -Aspartato, 4-propil éster)-L-fenilalanina, 1-propil éster como el compuesto con un perfil más parecido al de un potente edulcorante no calórico, por lo que se sugiere una ruta de síntesis en laboratorio para dicho compuesto.

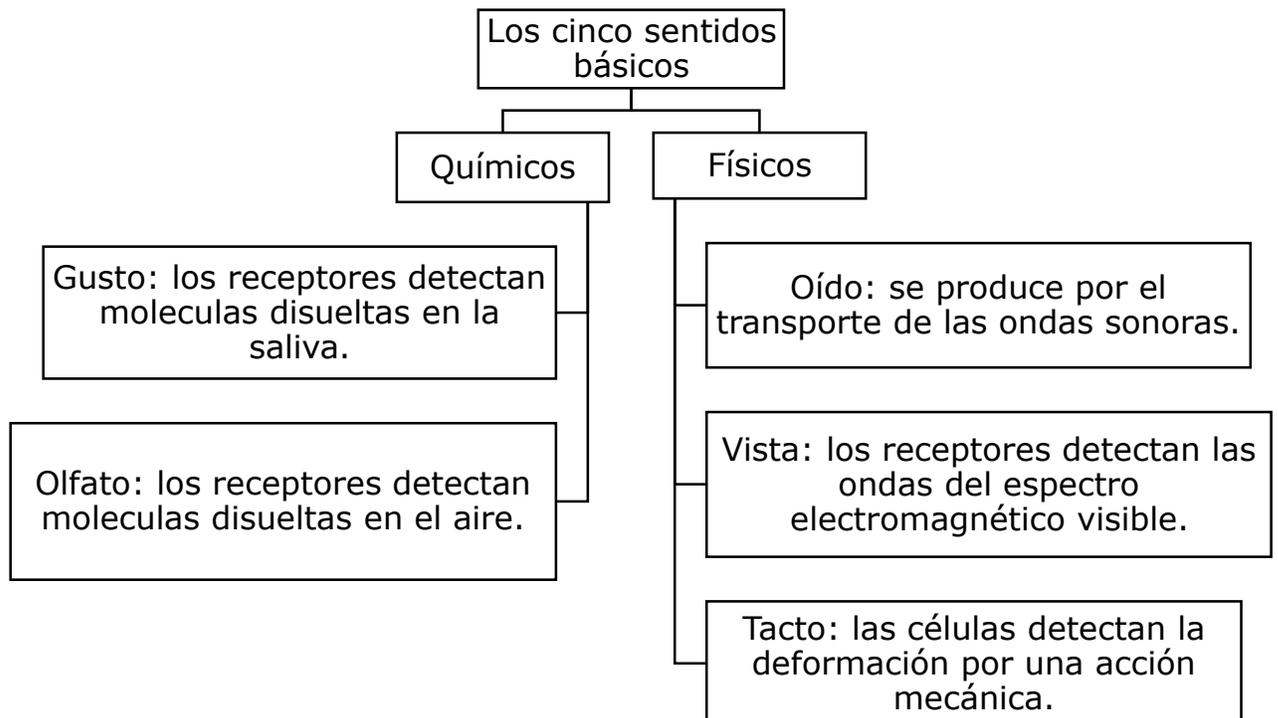
Antecedentes

Los sentidos

El ser humano percibe su entorno y se relaciona con él por medio de los sentidos, pues a través de éstos recibe la información del mundo exterior y la procesa en el cerebro para generar una experiencia y finalmente un conocimiento. [14]

Nuestro cuerpo cuenta con diversos sentidos dentro de los cuales la vista, oído, olfato, tacto y gusto son los cinco principales, estos se pueden dividir en dos categorías como se muestra en el **Figura 1**.

Figura 1. Mapa conceptual de los cinco sentidos básicos con los que cuenta el ser humano y su principal fundamento.



- **Sentidos físicos:** son aquellos en los que el fundamento de la percepción se basa en una propiedad física, como lo es la textura o la longitud de onda, por lo que estos sentidos no se saturan.
 - **Vista:** por medio de este sentido percibimos imágenes, las cuales a través de los conos se logran apreciar con colores. Existen tres tipos de conos: los denominados L-conos (abundancia del 64%) cuya mayor sensibilidad es a longitudes largas, M-conos (abundancia 32%) sensibles mayormente a longitudes de onda mediana y S-conos (abundancia 2-7%) que maximizan la sensibilidad a longitudes de onda cortas. Las otras células importantes en la visión son los bastones, ocupados principalmente en la vista periférica y visión nocturna pues son muy sensibles a bajas intensidades de luz y por el contrario se vuelven completamente ciegos cuando la luz es muy intensa. ^[33]
 - **Oído:** con este sentido están relacionadas las ondas sonoras, un tipo de ondas mecánicas las cuales entran en el conducto auditivo llegando al tímpano, haciendo que vibre y transmitiendo dicha vibración a 3 huesecillos que amplifican las ondas. El sentido del oído puede percibir tonos, los cuales están determinados por la frecuencia con la que las ondas sonoras llegan al tímpano y el volumen, el cual depende directamente de la amplitud de la onda. ^[34]
 - **Tacto:** la piel tiene realmente tres tipos de sensaciones (temperatura, dolor y presión) de los cuales la presión es

una distorsión mecánica de los cilios de las células, la temperatura tiene influencia en los canales iónicos generando así estas sensaciones y finalmente el dolor, el cual es el resultado de detectar ciertas sustancias que indican un daño en los tejidos ^[30] a partir de éstas sensaciones básicas se pueden generar otras sensaciones compuestas como por ejemplo el ardor, que es una combinación entre calor y dolor.

- **Sentidos químicos:** por medio de estos sentidos percibimos principalmente moléculas del medio que nos rodea, las cuales se unen con diferentes receptores generando un estímulo que podemos percibir como agradable o desagradable. A diferencia de los sentidos físicos, los sentidos químicos se saturan debido a que necesitan una proteína receptora y un ligando, lo que significa que existe una saturación del receptor impidiendo así la unión de más moléculas.
 - **Olfato:** este sentido se encarga de percibir diferentes sustancias dispersas en el aire. También considerado como el único sentido dual puesto que es capaz de percibir los estímulos exteriores como interiores del cuerpo humano, los receptores olfatorios están en la parte superior de las fosas nasales y para poder percibir una molécula es necesario que esta se encuentre dentro de un rango de 200 a 400 Daltones (Da). ^[9]
 - **Gusto:** es el sentido con el cual el ser humano percibe las sustancias disueltas en los alimentos. El órgano por excelencia del gusto es la lengua debido a que en esta

se encuentran los mayores receptores gustativos llamados papilas gustativas (caliciformes, fungiformes, foliadas y filiformes). Estas células están distribuidas específicamente en la lengua dependiendo del tipo. [8]

El sentido del gusto

Es importante no confundir el término “*gusto*” con “*sabor*” puesto que este último es un procesamiento multisensorial en el que se integran al menos tres diferentes canales: gusto, olfato y la somatosensación. Además, debemos tener en cuenta que el proceso de masticación contribuye en la percepción del sabor; el cual se define como “la sensación producida por un material que se encuentra en contacto con la boca, percibido principalmente por el gusto y olfato, influenciado por el esfuerzo al masticar, los receptores tácticos y la temperatura de la boca”. [8]

La percepción del gusto inicia cuando el alimento es triturado por las piezas dentales aumentando la superficie de contacto entre el alimento y la lengua, además favorece la disolución de las moléculas en la saliva y favorece la interacción de estas moléculas con las papilas gustativas. [23] Dentro de estas formaciones se encuentran los botones gustativos representados en la Figura 2.

Estas estructuras tienen forma de barril y presentan una abertura denominada poro gustativo que comunica con el medio bucal, dentro de este se encuentran las células gustativas en un rango de entre 50 y 100 unidades, la forma que presentan es alargada, con microvellosidades en su parte apical y conectadas a terminales nerviosas en la zona basal. [24]

Figura 2. Diagrama de un botón gustativo.

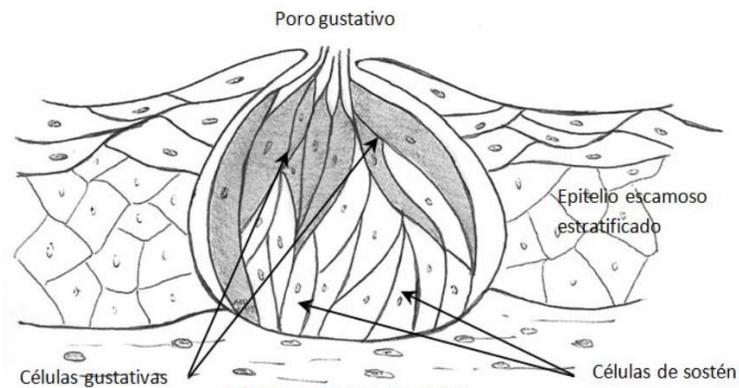


Diagrama general de un botón gustativo en el que se observan las principales células que lo conforman imagen tomada de (Morales Puebla, Mingo Sánchez, & Caro García, 2019)

Existen cuatro modalidades básicas del gusto: amargo, agrio, salado y dulce. Recientemente estudios realizados en Japón apuntan a una modalidad de sabor nueva que han denominado "umami". [18]

Anteriormente se creía que cada una de las sensaciones básicas del gusto se percibía en zonas específicas del dorso lingual lo cual dio pie a una especie de mapa mostrado en la **Figura 3**. Esta creencia ha quedado obsoleta debido a estudios moleculares que han demostrado que todas las áreas de la lengua son capaces de percibir cualquier sabor pues mientras cuenten con receptores gustativos son capaces de percibir todas las modalidades gustativas. [27]

Figura 3. Mapa de los sabores en la lengua.

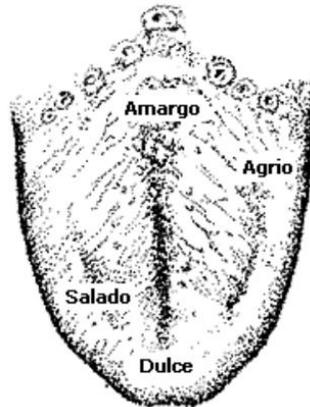


Diagrama de la lengua en el que se creía que el gusto salado se percibía en los costados de la punta de la lengua, el agrio en los costados posteriores, el amargo en la parte posterior de la lengua y el dulce en la parte frontal, imagen tomada de (Educativa, 2023)

Se conocen dos mecanismos de transducción de señalización; para los gustos salado y agrio corresponde el mecanismo de canales iónicos, mientras que, para el dulce, amargo y umami, el sistema de receptores asociados a proteínas G (que para efectos de este sentido la proteína G recibe el nombre de "gustoducina"). El reconocimiento de las diferentes moléculas resulta en una despolarización de la célula seguida de la liberación de neurotransmisores que en el cerebro se traducen como una de las cinco modalidades gustativas básicas. [32]

Gusto salado

Es la respuesta a moléculas iónicas como el NaCl y mecanismos sensibles a los canales selectivos conocidos como ENaC (canal epitelial de sodio sensible a amilorida), las sales activan estos mecanismos penetrando las microvellosidades y los canales basolaterales, cuando

estos iones se acumulan generan un cambio electroquímico favoreciendo la entrada de iones Ca^{2+} resultando en la liberación de neurotransmisores almacenados en vesículas intracelulares. [14]

Gusto agrio

Las sustancias que generan iones H^+ en disolución son las que causan estos estímulos, los mecanismos por los que se reconoce este gusto son variados. Las sustancias ácidas bloquean la salida de potasio causando una despolarización que abre los canales de sodio y calcio, que al aumentar su concentración intracelular se genera la liberación de neurotransmisores que se unen a las neuronas aferentes gustativas. [32]

Por otro lado, se han propuesto varios receptores para los iones H^+ entre los cuales se encuentran los canales ASIC (canales iónicos sensibles a ácido), los canales de K^+ y los heterodímeros PKD2L1 y PKD1L3 (polycystic kidney disease 2-like 1 protein/1 -like 3 protein) los cuales solo se expresan en las células gustativas. [14]

Gusto amargo

El gusto amargo referenciado por la quinina es una señalización de que se ha ingerido una sustancia tóxica, los receptores para este tipo de sustancias se encuentran asociadas a proteínas G de la familia T2R, generando segundos mensajeros que conducen a la liberación de Ca^{2+} proveniente del retículo endoplasmático, despolarizando la célula y liberando neurotransmisores. [24]

Gusto umami

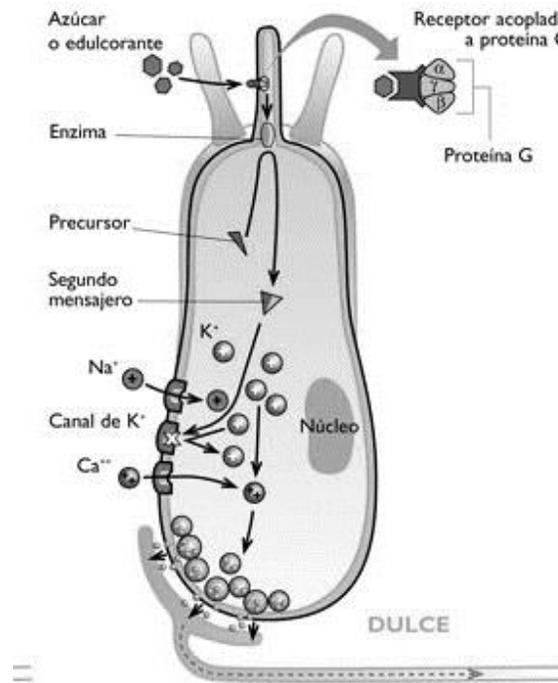
Existen dos aminoácidos que generan este gusto: el glutamato monosódico y el aspartato [8] este gusto depende del receptor metabotrópico truncado del glutamato subunidad 4 (mGluR4) y existen reportes de que las transformaciones de las señales del sabor umami son mediadas por una familia de receptores asociados a proteínas G (T1R1 y T1R3). [14] sin embargo, no se conocen con exactitud los mecanismos por los cuales los segundos mensajeros conducen a la liberación de neurotransmisores.

Gusto dulce

Las sustancias dulces al igual que el gusto umami y amargo son reconocidas por un grupo de receptores asociados a proteínas G (formadas por las subunidades α , β y γ) de la familia T1R2 y T1R3 los cuales pueden presentarse solos o asociados, sin embargo, cuando se encuentran asociados pueden responder a todas las moléculas dulces incluyendo: sacarina, glicina, aspartame, taumatina, etc. [9] Estas moléculas no entran directamente en la célula como se observa en la Figura 4, pero si causan cambios en el interior de la misma. Cuando las moléculas se unen a su receptor las subunidades de la proteína G se dividen en α y $\beta\gamma$ asociándose la primera subunidad con el guanósín trifosfato (GTP) y siendo liberada, el complejo activa la adenilciclase que cataliza la conversión de adenosín trifosfato (ATP) en adenosín monofosfato (AMP), siendo este el segundo mensajero que activa una quinasa con la que se propicia la fosforilación de los canales de potasio que, como un efecto domino, activa los canales iónicos de sodio y estos a su vez los canales de calcio, ion considerado el tercer mensajero

responsable de la liberación de los neurotransmisores que finalmente se traducen en el cerebro como un gusto dulce. [23]

Figura 4. Mecanismo de acción del gusto dulce



Una vez que el ligando se une con el receptor se liberan los mensajeros que bloquean los canales de potasio y por consiguiente activando los canales de sodio y finalmente se activan los canales de calcio generando una despolarización dentro de la célula y liberando los neurotransmisores que se traducen en el cerebro a un estímulo dulce, imagen tomada de (García Olmedo, 2023)

Ingredientes tecnológicos

Coadyuvantes tecnológicos

Los coadyuvantes tecnológicos son sustancias químicas que no se consumen como alimento en sí, más bien se utilizan intencionalmente en la transformación de materias primas, alimentos o sus ingredientes para cumplir un determinado propósito durante el tratamiento o la transformación de los mismos, y puede dar lugar a la presencia involuntaria, pero técnicamente inevitable, de residuos de la propia sustancia o sus derivados dentro del producto final, a condición de que no presenten ningún riesgo para la salud y no tengan ningún efecto tecnológico en la forma comercial. [19]

Aditivos alimentarios

Durante la historia del ser humano los alimentos han sido expuestos a diferentes procesos tecnológicos en los cuales, se agregan sustancias intencionalmente o no, a los productos, tal es el caso del humo, la sal o vinagre para su mejor conservación; azafrán o cochinilla para hacerlos más atractivos, etc. Con los avances en la química durante el siglo XVIII y con las necesidades alimentarias del siglo XIX la búsqueda de compuestos que pueden ser agregados a los alimentos se vuelve sistemática y a finales de este siglo se incluye el término "aditivo" en cuya denominación se incluían sustancias con diferentes efectos a la salud humana como son: las especias, enriquecedores, coadyuvantes tecnológicos, impurezas e incluso contaminantes. [17]

Hoy en día según el *Codex Alimentarius* se define como aditivo a "cualquier sustancia que en cuanto tal no se consume normalmente como alimento, ni tampoco se usa como ingrediente básico en alimentos, tenga

o no valor nutritivo, y cuya adición intencionada al alimento es con fines tecnológicos en sus fases de fabricación, elaboración, preparación, tratamiento, envasado, empaquetado, transporte o almacenamiento, resulte o pueda preverse razonablemente que resulte por sí o sus subproductos, en un componente del alimento o un elemento que afecte a sus características. Esta definición no incluye <contaminantes> o sustancias añadidas al alimento para mantener o mejorar las cualidades nutricionales". [6]

Clasificación de los aditivos alimentarios

Existen diferentes tipos de aditivos alimentarios, los cuales se clasifican de acuerdo con sus funciones tecnológicas más frecuentes como son:

1. Modificadores de las características organolépticas de los alimentos:
 - a) Colorantes: El uso de estos aditivos es principalmente para subsanar los cambios y/o pérdidas de color en los alimentos ya sea durante su procesamiento o bien en el almacenamiento. Dentro de esta categoría podemos encontrar dos tipos de colorantes.
 - i. Naturales: Generalmente se consideran relativamente inocuos y por esta razón sus limitaciones en emplearlos son menores. Aunque pueden ser obtenidos por extracción a partir de fuentes naturales como la clorofila o el rojo cochinilla, algunos de ellos es mucho más fácil obtenerlos por síntesis y además presentan una mayor pureza.

- ii. **Artificiales:** Estos colorantes se obtienen por medio de síntesis en un laboratorio, algunos ejemplos son el rojo 40 o las lacas, pero dichos compuestos siguen siendo estudiados exhaustivamente por cuestiones de seguridad. ^[10]

- b) **Potenciadores de sabor:** Estos aditivos no cuentan con sabor propio ya que su función es resaltar el sabor o el aroma con el que ya cuenta un alimento, entre los potenciadores de sabor más importantes se encuentran el glutamato monosódico y los nucleótidos (inosina 5-monofosfato y guanosina 5-monofosfato). ^[36]

- c) **Edulcorantes:** Su función principal es impartir gusto dulce a los alimentos, estas sustancias sustituyen a los azúcares como endulzantes. Para que un edulcorante sea utilizado en la industria alimentaria además de ser relativamente inocuos necesitan otras características esenciales entre las que destacan: el sabor dulce debe ser lo más parecido al de la sacarosa, resistir las condiciones del alimento, así como los tratamientos a los que se va a someter durante su elaboración. ^[28]

Estos aditivos pueden ser de dos tipos

- i. **Naturales:** Comúnmente son productos de origen vegetal que se obtienen por medio de una extracción o modificación química, como es la taumatina.

- ii. **Artificiales:** Los cuales son sintetizados en laboratorios y su finalidad además de impartir gusto dulce es reducir

el consumo calórico en el consumidor. Los Edulcorantes artificiales han sido objeto de polémicas y numerosos estudios referentes a su seguridad a largo plazo, uno de los ejemplos más claros es el ciclamato de sodio, el cual se sabe que en el tracto intestinal puede convertirse en ciclohexilamina, compuesto que llega a ser cancerígeno en el ser humano, razón por la cual está prohibido en E.E.U.U. Japón e Inglaterra. [28]

- d) Sustancias aromáticas: Estas se agregan a los alimentos para impartirles un nuevo aroma o corregir el propio, se obtienen principalmente a partir de extractos naturales de origen vegetal como es el limoneno o el mentol. [10]

2. Estabilizadores de las características físicas:

- a) Emulsificantes: Son sustancias anfifílicas ya sea de bajo o alto peso molecular que migran y se adsorben en la interfase de una emulsión, los emulsificantes de bajo peso molecular más comunes son los glicolípidos y los lípidos polares, mientras que en los de alto peso molecular se encuentran lipoproteínas y algunos polisacáridos como la goma arábiga. [26]

- b) Espesantes: por lo general son macromoléculas como la agarosa que mantienen la textura deseada en los alimentos, una de sus principales características es que se disuelven en agua fácilmente lo que resulta en un gran aumento en la viscosidad y en algunos casos se puede lograr un efecto

gelificante para evitar que se disgreguen los ingredientes del producto. [19]

- c) Antiaglomerantes: Estas sustancias disminuyen la tendencia de las partículas de adherirse entre ellas como el silicato de calcio en la sal.
- d) Correctores de acidez: Son sustancias que controlan o corrigen la acidez de un alimento, por lo general se usan ácidos o bases débiles en sistemas conjugados; el principal corrector de acidez es el ácido ascórbico.

3. Inhibidores de alteraciones químicas:

- a) Antioxidantes: Sustancias como la terbutilhidroquinona (TBHQ) o el butilhidroxianisol (BHA), se añaden principalmente a alimentos con alto contenido de grasas para frenar los procesos de oxidación por la luz, oxígeno, metales, etc.
- b) Conservadores: Estas sustancias se agregan con el fin de aumentar la vida de anaquel de un producto protegiéndolos del deterioro provocado por los microorganismos. Los conservadores como el benzoato de sodio, cuando son empleados a las concentraciones permitidas no matan a los microorganismos, sino que detienen su proliferación.

4. Mejoradores y correctores: Son sustancias que principalmente se emplean en la panificación, vinificación, en la maduración cárnica y maduración de quesos.

Edulcorantes

Un aditivo alimentario se clasifica como edulcorante cuando cumple con la siguiente definición: "toda sustancia química capaz de proporcionar gusto dulce al alimento que lo contiene". [20]

Como ya se mencionó los edulcorantes pueden dividirse en naturales y artificiales, sin embargo, también pueden clasificarse de acuerdo a su aporte nutritivo para el cuerpo:

- **Nutritivos:** Estos edulcorantes aportan 4 Kcal por gramo, dentro de los que podemos encontrar la sacarosa, glucosa, fructosa, la miel y los polialcoles.
- **No nutritivos:** Estas sustancias endulzan, pero su aporte calórico es mínimo o incluso ausente, como son la sacarina, aspartame, ciclamato, sucralosa, acesulfame, neotame, advantame, etc. [1]

Poder edulcorante

El poder edulcorante (PE) se refiere a una de las propiedades más conocidas de las sustancias que aportan gusto dulce y se determina relacionando una solución de sacarosa (30 g/L a 20 °C que se le asigna un poder edulcorante de 1). Teniendo como referencia la sacarosa muchos monosacáridos, disacáridos y oligosacáridos presentan un PE menor (glucosa PE=0.7, galactosa PE=0.3, rafinosa PE=0.2) mientras que los aditivos considerados como edulcorantes intensivos presentan un PE mucho mayor a la sacarosa. [4]

Aspartame

El aspartame es un oligopéptido formado por ácido aspártico y fenilalanina en forma de un éster de metilo (N-(L- α -Aspartil)-L-fenilalanina,1-metil éster) que fue descubierto en 1965 por J.D Sehlatter en los laboratorios de la empresa G. D. Searle and Company. En 1974 fue autorizada su comercialización en Estados Unidos, sin embargo, este aditivo alimentario ha tenido diversas evaluaciones toxicológicas a lo largo de los años hasta que en 1996 fue establecido como un edulcorante general para alimentos sólidos y bebidas refrescantes. Hoy en día el aspartame y sus productos de biotransformación se han asociado con la epilepsia, tumores cerebrales y efectos sobre el sistema nervioso. Otras preocupaciones ante el aspartame son en sectores específicos de la población tales como bebés, mujeres embarazadas, adolescentes y pacientes de fenilcetonuria (PKU). [12]

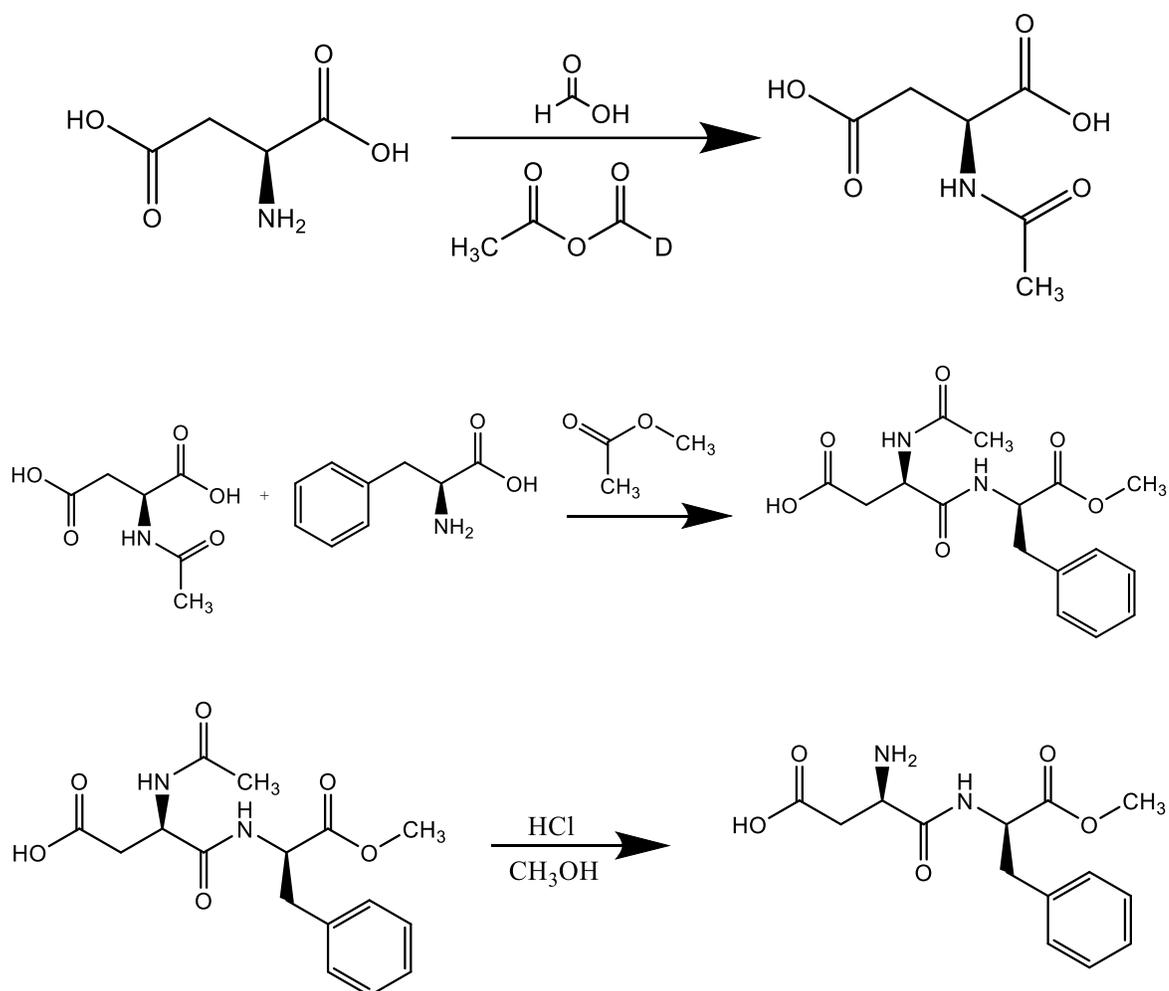
El aspartame es un aditivo cuyo PE=100-200, es estable a pH de 3-5, es poco soluble en agua (10 g/L a 25 °C pH=5-7) no tiene resabio amargo y su empleo está destinado a productos ligeramente ácidos que no se someten a tratamientos térmicos fuertes, pues esto favorece la formación de dicetopiperazina mediante una ciclación entre el grupo éster de la fenilalanina y el grupo α -amino del ácido aspártico, perdiendo así su propiedad endulzante.

El aspartame se emplea en diversos productos en el mundo, entre los principales se encuentran: bebidas en polvo, goma de mascar, caramelos, gelatinas, postres, pudines, yogurt, vitaminas, pastillas para la tos, etc. [2]

Síntesis del aspartame

La síntesis del aspartame se ha realizado de forma química en laboratorios, en este método se condensa el anhídrido N-formil L-aspartico y el éster metílico de la L-fenilalanina. El producto obtenido es reducido mediante hidrogenación catalítica para obtener el producto final: aspartame, como se representa en la Figura 5. [15]

Figura 5. Obtención de Aspartame



Para la obtención de aspartame se procede a la protección del grupo amino del ácido L-aspartico con ácido fórmico y anhídrido acético,

posteriormente se agrega el acetato de metilo y L-fenilalanina, finalmente se realiza la desformilación con ácido clorhídrico y metanol.

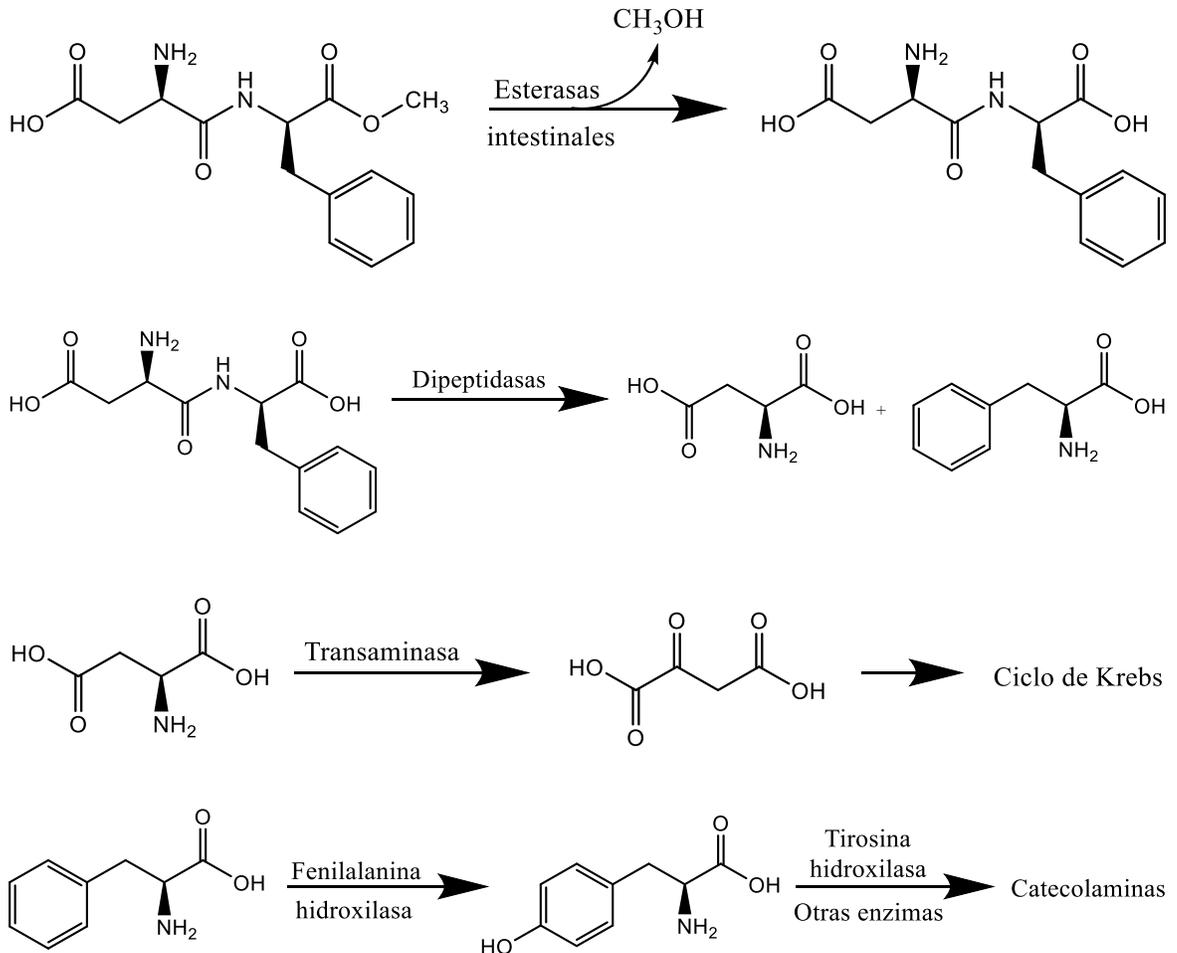
Biotransformación del aspartame

La biotransformación del aspartame se representa en la Figura 6, este proceso se basa principalmente en reacciones de hidrólisis, en el primer paso las esterasas intestinales hidrolizan el grupo metilo liberando metanol y L-aspartil-L-fenilalanina. El proceso de hidrólisis de los péptidos ocurre en la mucosa superficial del intestino delgado obteniendo así fenilalanina y aspartato.

El metanol liberado es absorbido y transformado principalmente en CO₂ y metabolitos de formilo, mientras que los aminoácidos libres son absorbidos y dirigidos a otras rutas metabólicas; el aspartato lleva a cabo una transaminación para producir oxalacetato y ser introducido al ciclo de los ácidos tricarboxílicos (TCA) para finalmente producir CO₂. La incorporación directa a proteínas también puede llevarse a cabo por medio del ARNt.

La fenilalanina tiene su propia ruta metabólica en la cual la enzima fenilalanina hidroxilasa (PAH) y la coenzima que facilita la reacción, tetrahidrobiopterina (BH₄) transforman el aminoácido en tirosina que se introduce al TCA produciendo CO₂, o por acción de la tirosina hidroxilasa formar catecolaminas, sin embargo, al igual que el aspartato, la fenilalanina y la tirosina pueden ser introducidas a las proteínas por medio de ARNt. [29]

Figura 6. Principal biotransformación del Aspartame



Durante la biotransformación del aspartame se libera metanol que es dirigido al ciclo de Krebs, mientras que los aminoácidos aspartato y fenilalanina pueden ser enviados a la formación de proteínas o convertidos en oxalacetato o tirosina respectivamente.

Efectos a la salud

El sector de la población que padece PKU debe tener especial cuidado con los productos endulzados con este compuesto, pues durante la biotransformación del aspartame se libera fenilalanina al organismo y debido a que los pacientes llevan una dieta muy controlada con respecto

a este aminoácido, el consumir este edulcorante puede llegar a representar un riesgo para su salud. Pues como se sabe en estos pacientes la fenilalanina se metaboliza a fenilacetato y fenilactato que llegan a causar daño cerebral. [13]

Modificaciones del aspartame

Debido a los descubrimientos del Acesulfame K y la sucralosa se comenzó a planificar la búsqueda de un edulcorante que eliminara el resabio amargo que poseían la mayoría de los edulcorantes artificiales encontrados hasta el momento y en el año 2002 Monsanto comienza a trabajar con aspartame encontrando que si se realiza una modificación con 3,3-dimetilbutiraldehído y por medio de una alquilación reductora se obtenía un compuesto con un PE de entre 7,000 y 13,000, el Neotame. [20]

En el año 2014 fue aprobado un nuevo edulcorante no calórico conocido como advantame, un derivado del aspartame combinado con 3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)propanal (HMPA), puede ser sintetizado con aspartame y vainillina, la vainillina es transformada a HMPA en cuatro pasos. Fue desarrollado por la empresa japonesa Ajinomoto y cuenta con un PE de entre 20,000 y 40,000, es capaz de enmascarar resabios desagradables por parte de otros edulcorantes intensivos. [7]

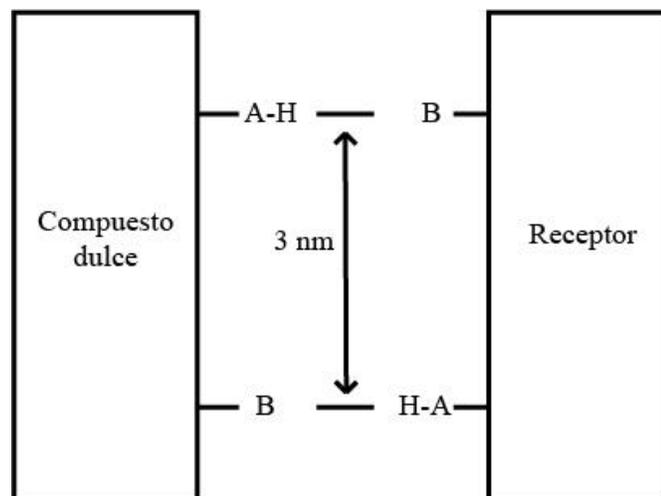
Teoría molecular del gusto dulce (AH/B/X)

Basada en la hipótesis propuesta por Shallenberger y Acree, establece que la percepción del sabor dulce se lleva a cabo en los receptores de las papilas gustativas, pues estas cuentan con un sistema donador/receptor de protones entre las sustancias presentes en el alimento y los receptores de las células (AH/B/X) dicho sistema propone

que "A" y "B" en la Figura 7 son átomos electronegativos como el Oxígeno o Nitrógeno, H es un átomo de Hidrógeno unido por un enlace covalente al átomo "A", mientras que "X" es un grupo hidrofóbico que es atraído por grupos similares en el receptor.

Existen condiciones para que una sustancia cuente con un gusto dulce: La distancia entre "A" y "B" debe ser al menos 2.5 y 4 Å, si la distancia entre estas especies químicas es menor se presentará un gusto amargo. En el caso de los azúcares deben presentar una configuración dextrógira, como es el caso de la D-glucosa puesto que el grupo hidroxilo del C4 posee la función AH mientras que el oxígeno en el C3 la función B que junto con el grupo hidroxilo del C6 se unirá al receptor por puentes de hidrógeno. [23]

Figura 7. Ilustración de la teoría AH-B/X



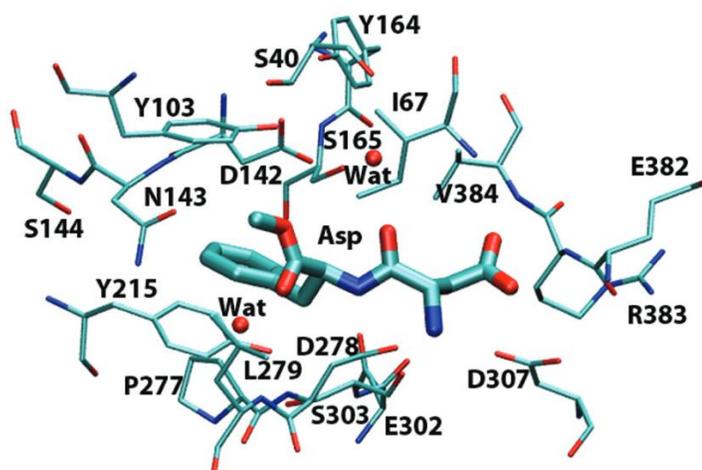
Sitio de unión del aspartame

El aspartame se acopla al receptor metabotrópico del glutamato subunidad 1 (mGluR1) principalmente por medio de puentes de

hidrógeno, estas interacciones se llevan a cabo con los aminoácidos: Asp 278, Ser 303, Asp 307, Val 384 y Arg 383 como se observa en la Figura 8. La menor distancia en los puentes de hidrógeno se reporta con el Asp 278 de tan solo 2.6 Å. [21]

La energía de unión reportada para el aspartame con el receptor mGluR1 es de -9.6 Kcal/mol [22] bajo las configuraciones de acoplamiento con los puentes de hidrógeno anteriormente mencionados.

Figura 8. Sitio de unión del aspartame en el mGluR1



En la figura 8 se observan los principales aminoácidos con los que se presentan interacciones entre el aspartame y el mGluR1, así como las moléculas de agua presentes.

Estudios de acoplamiento molecular

Estos estudios fueron descritos en el año 1982 por Kuntz, los cuales se han convertido en una herramienta muy útil para la búsqueda, predicción de actividad biológica y selección virtual de ligandos con base en sus estructuras y/o de posibles dianas terapéuticas. [3] Los ligandos por lo general son moléculas pequeñas con diferentes características

como las hormonas, neurotransmisores, fármacos, etc. Por otro lado, los blancos o dianas terapéuticas son moléculas grandes como ácidos nucleicos o proteínas, de este modo, los ligandos se unen a las dianas generando así una serie de respuestas en el organismo que resultan ser actividades biológicas de activación o de inhibición.

El acoplamiento molecular es un método bioinformático que permite predecir y calcular las conformaciones más estables con las cuales se favorece la interacción entre un ligando y una diana a partir de sus representaciones tridimensionales, en estos cálculos, mientras más estable, específica y favorable sea la unión entre el ligando y su receptor mayor será su actividad biológica. [3]

El acoplamiento molecular emplea dos algoritmos por separado, el primer algoritmo (algoritmo de muestreo) calcula las conformaciones espaciales en las que el ligando puede presentarse dentro de un sitio activo de la diana, mientras que el segundo algoritmo (algoritmo de puntuación) predice las energías de unión de enlace entre el ligando y la diana para cada una de las conformaciones predichas por el algoritmo de muestreo. Finalmente, estas conformaciones son jerarquizadas en función a su energía de unión [22] sin embargo esta metodología tiene algunas desventajas pues no se considera la naturaleza dinámica de la diana, sino que considera a este como una estructura rígida y solo permite otorgar flexibilidad a ciertos residuos dentro de la estructura. [31]

Teoría del Funcional de la densidad.

Formulada en 1927 por Thomas y Fermi, extendida por Dirac, la teoría del funcional de la densidad (DFT) surge para el cálculo de sistemas de muchos cuerpos, principalmente para un gran número de electrones

y átomos. Permite calcular las interacciones electrónicas y así mismo las interacciones intermoleculares. Hohenberg y Kohn proponen que los parámetros del sistema dependen de la densidad electrónica en vez de la posición de los electrones.

Kohn y Sham demuestran que a partir de la teoría es posible formular una ecuación para los orbitales de una partícula, de los cuales se obtiene la densidad. La DFT era muy popular en el estado sólido, durante los años 70's y en los 90's se refinan los cálculos con aproximaciones y se precisa su uso para la química cuántica. Ahora la DFT es un método fundamental para los cálculos de estructuras electrónicas en ambos campos de aplicación.

En la mecánica cuántica el objeto básico es la función de onda, mientras que en la DFT el objeto básico es la densidad, como consecuencia la energía será un funcional de dicha densidad. Además, se considera que la energía será mínima para la densidad real del sistema. Se ha demostrado que existe una relación 1:1 entre la densidad y la función de onda por lo que es válido emplear indistintamente una u otra.
[16]

Un punto por el cual la función de onda es simplificada al usar la densidad es que, en la primera, por cada partícula se emplean tres variables es decir que para un sistema de N partículas, se tendrán 3N variables, mientras que, si se utiliza la densidad, el sistema solo contará con tres variables. Sin embargo, aunque la DFT es una teoría exacta, las ecuaciones empleadas no se conocen realmente y por tanto hay que aproximarlas.

Aun contando las aproximaciones hechas a la teoría, no se conoce la forma funcional para las energías de intercambio y correlación entre los electrones debidas al principio de exclusión de Pauli y a la repulsión Coulombiana.

Las aproximaciones empleadas para las energías mencionadas son:

- Aproximación de Densidad Local (LDA): Establece que los valores para estas energías dependen de la densidad en dicho punto y es considerado como el que tendría un gas de electrones libres con dicha densidad.
- Aproximaciones de Gradiente Generalizado (GGA): Establece que los valores obtenidos son semilocales, pues consideran la densidad en cada punto y sus gradientes, estas aproximaciones son muy útiles para propiedades como las geometrías y energías del estado fundamental.
- Funcionales dependientes de los orbitales e intercambio exacto: Estos suponen que la energía de intercambio y correlación depende explícitamente de los orbitales de Kohn-Sham, incluyen de manera completa la energía de intercambio y correlación, pero la desventaja es que computacionalmente son más costosos de llevar a cabo.

Objetivos

En este estudio se intentará encontrar al menos un derivado estructural del aspartame que cuente con potencial actividad biológica, un mayor PE y una posible aplicación en la industria de alimentos disminuyendo los riesgos y desventajas que presenta este aditivo.

Por medio de estudios computacionales, realizar un análisis de acoplamiento molecular entre diferentes derivados estructurales del aspartame y el receptor para evaluar la afinidad de dichos compuestos con el sitio de unión.

Obtener alguna propiedad termodinámica en los edulcorantes existentes que se correlacione con el PE para poder diseñar moléculas más dulces que el aspartame y ampliar las opciones que se puedan emplear en la industria.

Proponer una posible ruta de síntesis para el derivado estructural del aspartame seleccionado con la finalidad de poder obtenerlo en el laboratorio y tener la oportunidad de realizar estudios toxicológicos.

Hipótesis

De acuerdo con las características del sitio de unión del aspartame, si se aumentan las interacciones en el complejo ligando-receptor y se disminuye la energía de unión, el complejo proteína-ligando será más estable y por tanto la molécula presentará un mayor poder edulcorante.

Las interacciones que se deben ver favorecidas con base en las modificaciones ya existentes del aspartame son las hidrofóbicas, pues en el neotame y advantame se agregan cadenas alifáticas al compuesto.

De las modificaciones que se realicen dependerán las reacciones de biotransformación empleadas por el organismo para la eliminación de la molécula y por consiguiente los productos de biotransformación liberados al cuerpo que pueden presentar un menor riesgo a la salud.

Metodología

Selección de complejos proteína-ligando y preparación del receptor.

Para el desarrollo de este trabajo se utilizó el complejo formado por la proteína mGluR1 como receptor y glutamato como ligando tomada de la base de datos Protein Data Bank (PDB), se realizó una colección de archivos PDB de los receptores para la actividad edulcorante del aspartame en el mGluR1 para los cuales se emplearon las entradas PDB (1EWK, 1EWT, 1EWV, 1ISS, 1ISR y 1KS9). Se llevó a cabo la identificación del sitio de unión del ligando, el análisis espacial del pocket de unión en el receptor y las interacciones más importantes reportadas con el ligando en su estructura cristalina.

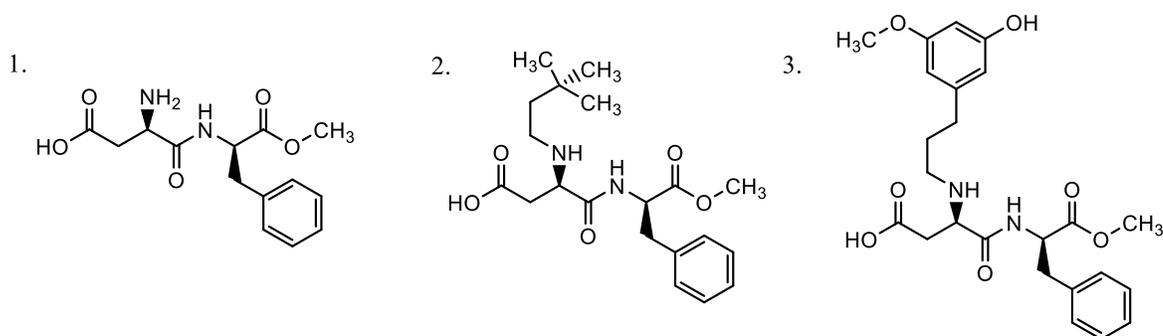
En el software UCSF Chimera 1.16 se eliminaron las moléculas de agua, el ligando y el carbohidrato presente. En todas las entradas PDB elegidas se encontró el mismo problema; una ausencia de aminoácidos en el intervalo 124-154, que aunque reportados en la plataforma PDB no se presentaba la estructura terciaria, estos residuos se colocaron manualmente haciendo uso de Modeller 10.2 mientras que la distribución espacial se llevó a cabo en el software de Molsoft ICM-Chemist en cada uno de los archivos PDB, así como construcción de los puentes disulfuro y puentes de hidrógeno necesarios para la estabilización de la proteína.

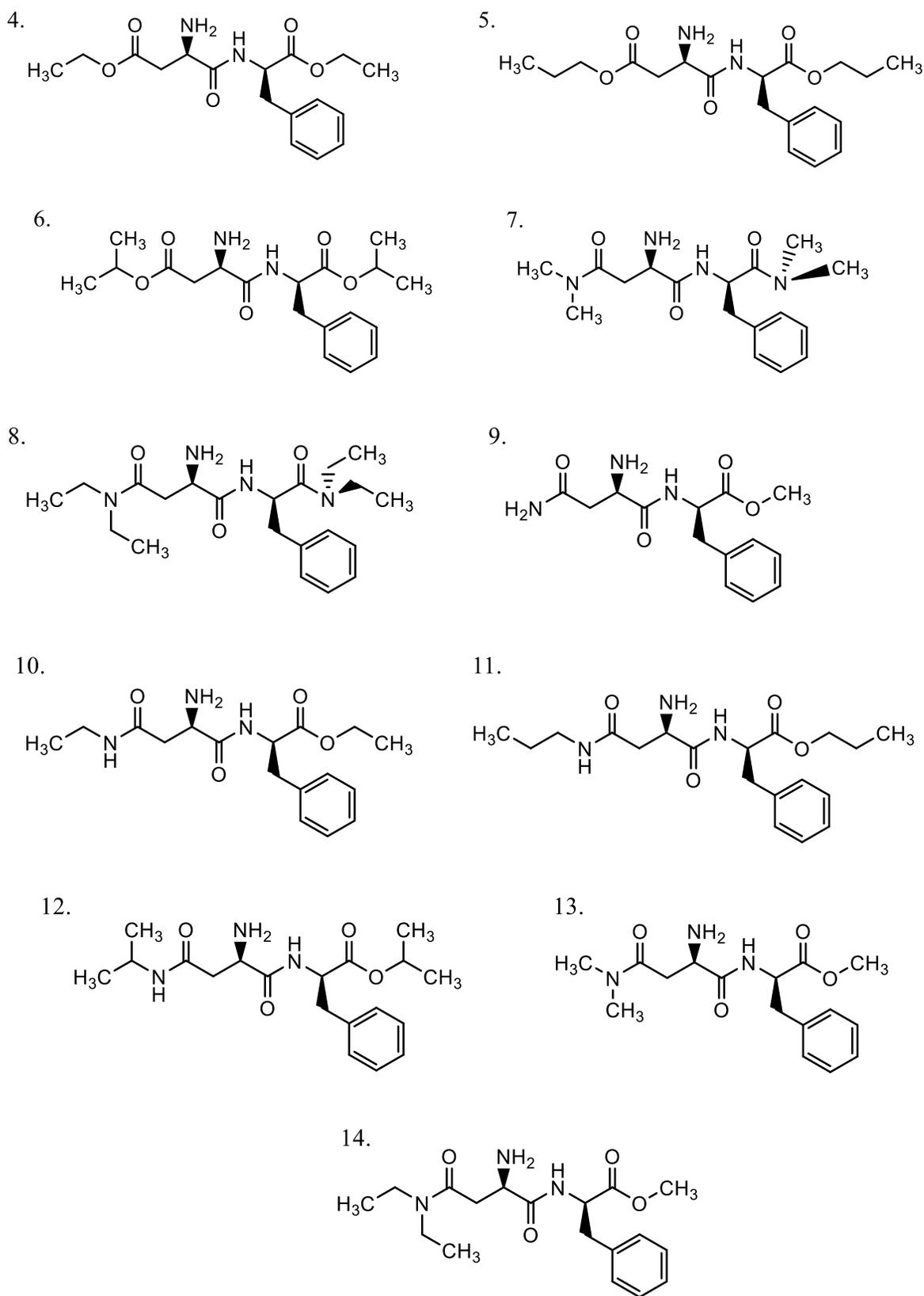
Puesto que el mGluR1 es una proteína dimérica se parte con la base de que ambas cadenas son iguales por lo que se analizaron las energías de cada estructura cuaternaria obtenida en el mismo software y se eligió el arreglo con la menor diferencia energética entre ambas cadenas para los estudios de acoplamiento molecular.

Construcción de los ligandos propuestos y obtención de código SMILES.

A partir de la molécula del aspartame obtenida en la plataforma PubChem se modelaron once diferentes derivados estructurales del aspartame con el software Avogadro 1.2.0n los que se muestran en la Figura 9, utilizando este mismo para obtener los códigos SMILES, se analizó el perfil energético realizando una optimización geométrica y energética usando un campo de fuerza MMFF94 para cada uno de los derivados estructurales con el fin de obtener la colección de ligandos listos a probar en los estudios de acoplamiento molecular.

Figura 9. Edulcorantes no calóricos existentes en la industria y los derivados estructurales del aspartame propuestos para el acoplamiento molecular.





Estructuras de los compuestos empleados para los estudios posteriores de acoplamiento molecular y cálculos de frecuencia. **1.** Aspartame **2.** Neotame **3.** Advantame **4.** N-(L- α -Aspartato, 4-etil éster)-L-fenilalanina, 1-etil éster **5.** (N-(L- α -Aspartato, 4-propil éster)-L-fenilalanina, 1-propil éster) **6.** (N-(L- α -Aspartato, 4-isopropil éster)-L-fenilalanina, 1-isopropil éster) **7.** (N-(L- α -Aspartato, 4-dimetilamida)-L-fenilalanina, 1-dimetilamida) **8.** (N-(L- α -Aspartato, 4-dietilamida)-L-fenilalanina, 1-dietilamida) **9.** (N-(L- α -Asparagil)-L-fenilalanina, 1-metil éster) **10.** (N-(L- α -Asparagil, 4-etil éster)-L-fenilalanina, 1-etil éster) **11.** (N-(L- α -Asparagil, 4-propil éster)-L-fenilalanina, 1-propil éster) **12.** (N-(L- α -Asparagil, 4-isopropil éster)-L-fenilalanina, 1-isopropil éster) **13.** (N-(L- α -Asparagil, 4-dimetilamida)-L-fenilalanina, 1-metil éster) **14.** (N-(L- α -Asparagil, 4-dietilamida)-L-fenilalanina, 1-metil éster)

Predicción de la posible actividad biológica de cada uno de los derivados estructurales del aspartame.

Haciendo uso del código SMILES se empleó la herramienta PASSONLINE para predecir las posibles actividades biológicas de cada uno de los diferentes derivados estructurales del aspartame propuestos anteriormente utilizando un método QSAR.

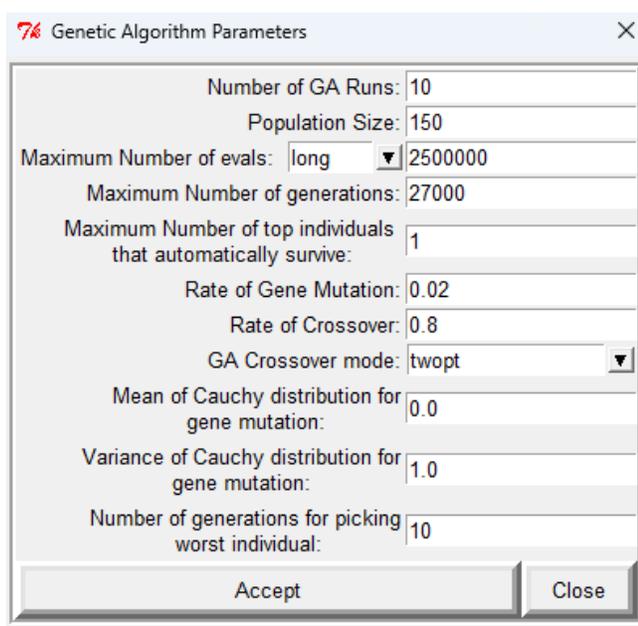
Acoplamiento molecular.

Por medio de estudios de acoplamiento molecular se probaron cada uno de los derivados estructurales del aspartame para lo cual se utilizó el software Autodock4 donde se colocó la proteína receptora y se creó una GridBox con un total de 241865 puntos por mapa de los cuales corresponden en la dimensión $x=64$, $y=60$ $z=60$ con centro en las coordenadas (8.168, 7.617, 12.442) y un espacio de 0.408 Å esto con la

finalidad de que se contengan los principales aminoácidos con los cuales interactúa el aspartame.

Una vez establecido el centro y el tamaño del GridBox se realizó el acoplamiento molecular entre cada uno de los derivados estructurales del aspartame y la proteína utilizando un método de algoritmo genético con los parámetros establecidos en la Figura 10.

Figura 10. Parámetros empleados para la realización del acoplamiento molecular en cada uno de los ligandos propuestos.



The image shows a dialog box titled "Genetic Algorithm Parameters" with a close button (X) in the top right corner. The dialog contains several input fields and buttons. The parameters are as follows:

Parameter	Value
Number of GA Runs:	10
Population Size:	150
Maximum Number of evals:	long (dropdown) 2500000
Maximum Number of generations:	27000
Maximum Number of top individuals that automatically survive:	1
Rate of Gene Mutation:	0.02
Rate of Crossover:	0.8
GA Crossover mode:	twopt (dropdown)
Mean of Cauchy distribution for gene mutation:	0.0
Variance of Cauchy distribution for gene mutation:	1.0
Number of generations for picking worst individual:	10

At the bottom of the dialog, there are two buttons: "Accept" and "Close".

Cálculos de energía y optimización geométrica para cada ligando dentro del complejo ligando-proteína.

Con cada uno de los resultados obtenidos en el acoplamiento molecular se utilizó una vez más el software Chimera, esta vez para eliminar la molécula proteica del receptor y conservar únicamente la disposición espacial del ligando en las conformaciones obtenidas.

Los cálculos mecánico cuánticos se emplearon como herramienta para corroborar que la energía que presentaban las geometrías obtenidas fuera posible y que una vez optimizadas resultaran con mínimas frecuencias en la superficie de potencial, dichos cálculos se realizaron en el software Gaussian09 y se realizaron tres niveles de teoría: PBE, B3LYP y M062x.

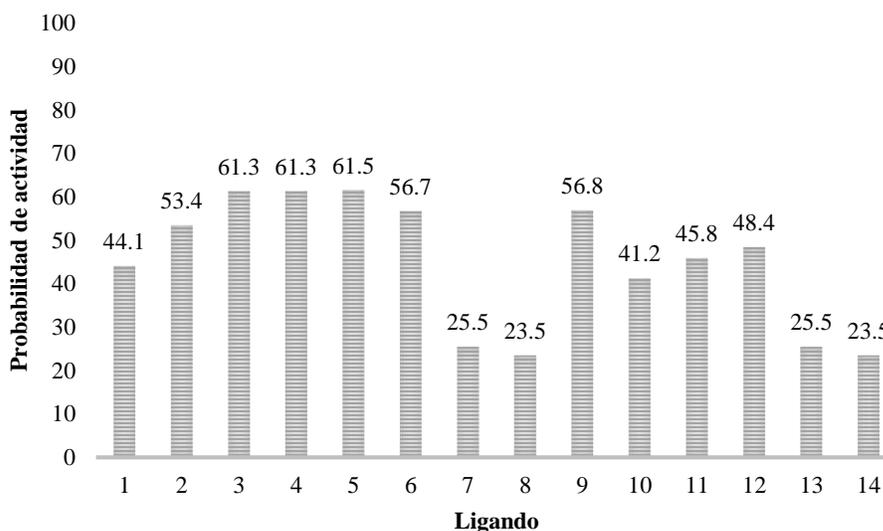
Los cálculos energéticos se llevaron a cabo en MIZTLI, equipo de supercómputo de la UNAM ubicado dentro del Laboratorio Nacional del Cómputo de Alto Desempeño (LANCAD). Para cada compuesto propuesto se realizó un cálculo con la conformación obtenida dentro del compuesto P-L y otro en el que se agregó una optimización geométrica con la finalidad de obtener una diferencia entre los perfiles energéticos.

Resultados

Con los derivados estructurales propuestos y analizados con PASSONLINE se obtuvieron las posibles actividades biológicas que presentan cada uno de los compuestos asignándoles un valor entre 0-1 que cuantifica la probabilidad de que cuenten con dicha actividad (Pa), estos datos completos se encuentran recopilados en el ANEXO I.

Dentro de las posibles actividades biológicas que presentan los derivados estructurales del aspartame se observó que la probabilidad de que se empleen exitosamente como edulcorantes no es superior a 62% como se observa en la Figura 11.

Figura 11. Grafico comparativo de la Pa de los edulcorantes no calóricos existentes y de los derivados estructurales del aspartame propuestos.



Dentro de los derivados estructurales propuestos en el presente trabajo los compuestos 4, 5, 9 y 6 poseen los valores de Pa para

edulcorante más altos: 61.3%, 61.5%, 56.8% y 56.7% respectivamente, lo que los coloca como principales candidatos a resultar en un buen compuesto dulce.

Por otro lado, en el mGluR1 se obtuvieron diversos arreglos conformacionales para el segmento modelado con Modeller y MolSoft, los cuales presentaron diferentes energías en cada una de las cadenas protéicas, datos recopilados en el ANEXO II, la disposición utilizada en los estudios posteriores se muestra en la Figura 12.

Figura 12. Comparación del archivo PDB antes y después de ser tratado computacionalmente

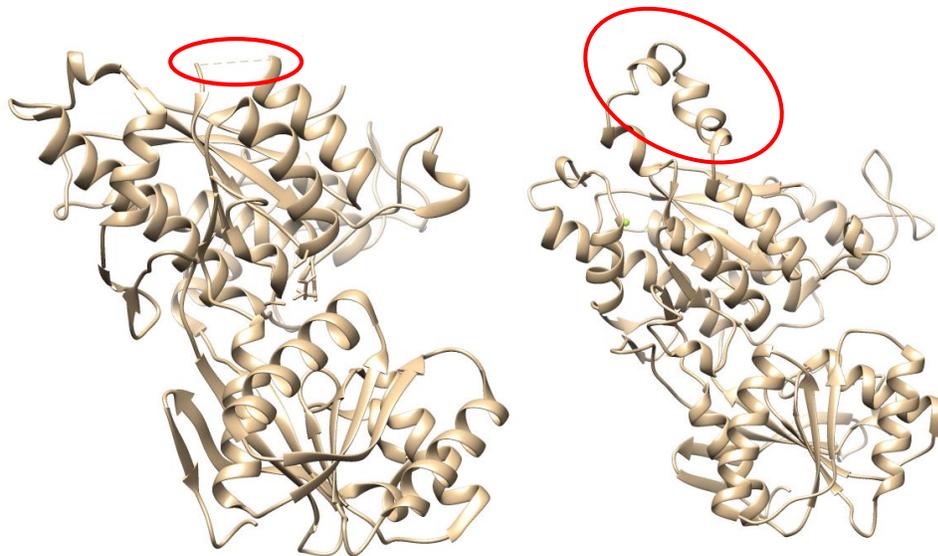


Figura 12. En la imagen a la izquierda se muestra el archivo PDB antes de su tratamiento en Molsoft en el que se observa el hueco en la secuencia de aminoácidos 124-154. E la derecha se observa el archivo con la secuencia de aminoácidos colocada y con la conformación adecuada para el estudio.

Con los derivados estructurales probados en el acoplamiento molecular se obtuvieron diferentes conformaciones que se jerarquizan de acuerdo a la menor energía de enlace en el complejo P-L, además de otros parámetros que se exponen en el ANEXO III, mientras que en la Tabla 1 se concentra la media de los parámetros más representativos como la energía de enlace que tiene el ligando en el complejo P-L, la constante de inhibición que presenta la proteína ante el ligando propuesto y la energía de torsión que presenta el ligando dentro del complejo y la energía de antienlace del complejo P-L.

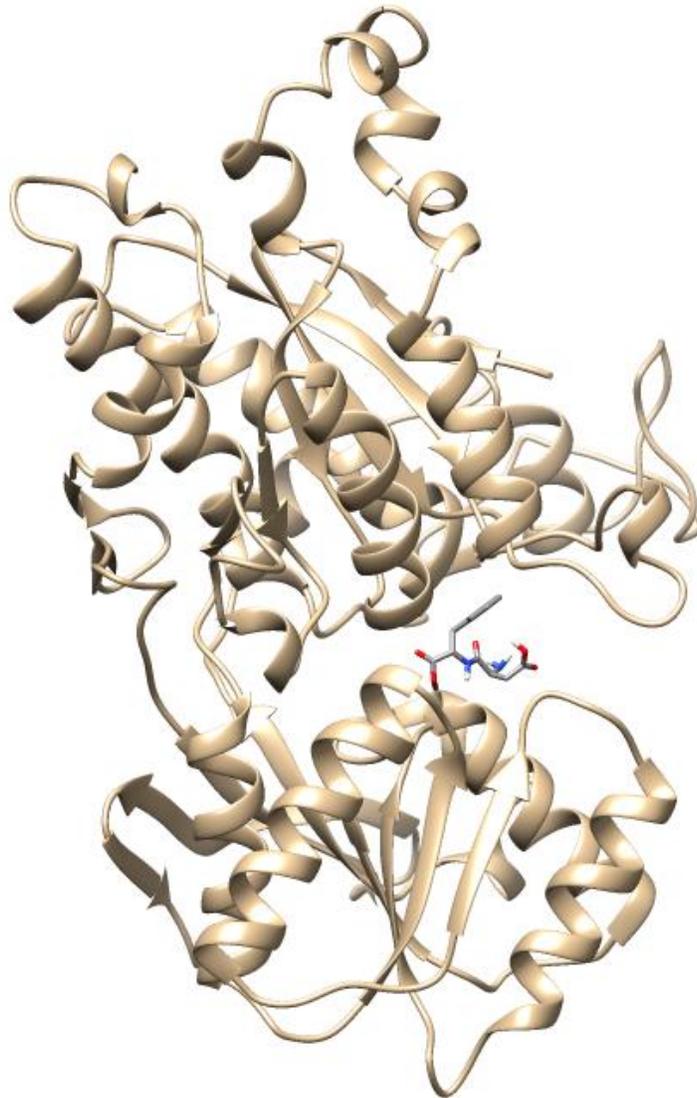
Tabla 1. Resultados obtenidos en los análisis de acoplamiento molecular en Autodock4.

Ligando	E. de enlace [kcal/mol]	K. inhibición [mM]	E. de torsión [kcal/mol]
1	-5.74	0.06	2.98
2	-2.67	13.00	3.88
3	-3.46	1.59	4.77
4	-4.60	0.47	3.58
5	-3.84	1.26	4.18
6	-4.98	0.25	3.58
7	-4.98	0.30	3.58
8	-5.12	0.21	2.39

9	-5.53	0.26	0.89
10	-4.34	0.89	3.28
11	-5.60	0.16	1.29
12	-4.34	0.63	1.09
13	-4.34	1.25	3.58
14	-5.28	0.17	2.39

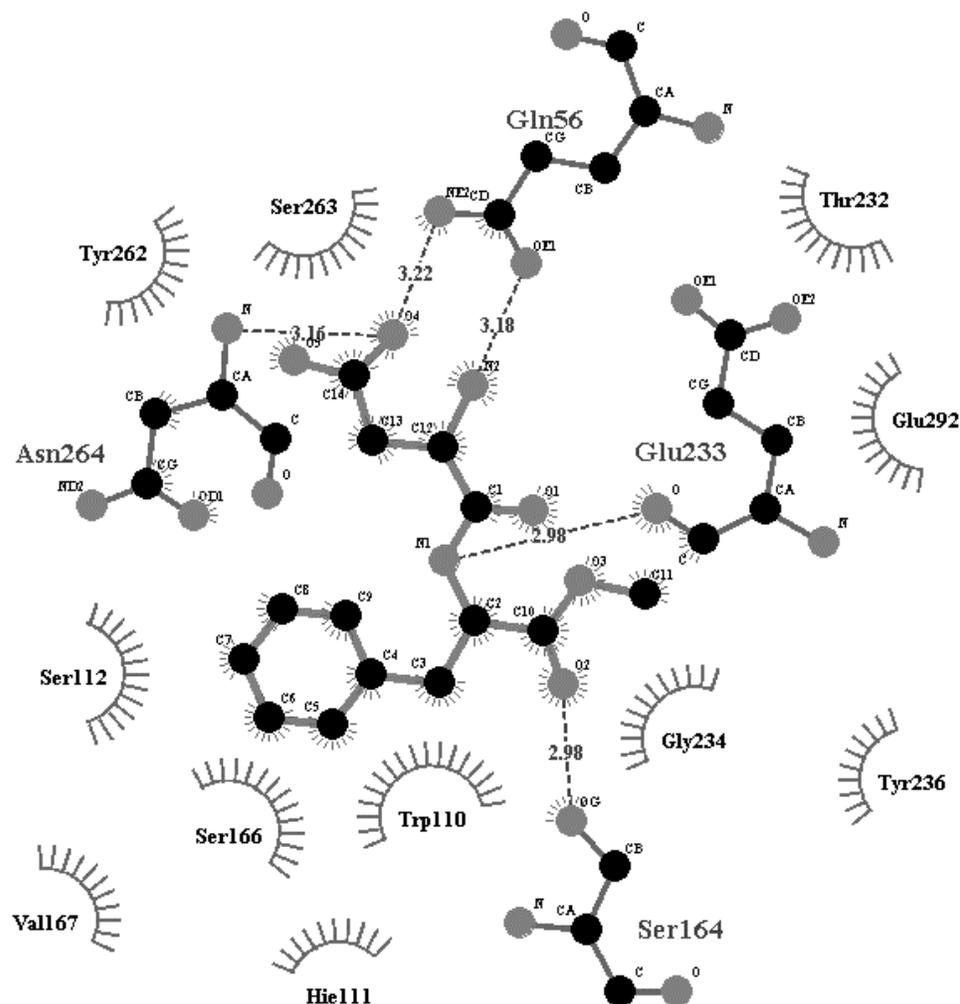
Las interacciones en el complejo P-L del aspartame se muestran en las Figuras 13 y 14 las cuales muestran la conformación con la energía de enlace más baja (-5.74 kcal/mol) dichas interacciones son principalmente hidrofóbicas con los residuos Trp110, Hile111, Ser112, Ser166, Val167, Thr,232, Gly234, Tyr236, Tyr262, Ser263 y Glu292, mientras que con los aminoácidos Gln56, Ser164, Glu233 y Asn264 se presentan interacciones del tipo puentes de hidrógeno.

Figura 13. Diagramas del complejo proteína-ligando entre el mGluR1 y el Aspartame.



Representación del complejo P-L en el que se observa al aspartame en el sitio de unión en su conformación más estable con el mGluR1 obtenida en UCSF Chimera.

Figura 14. Diagramas del complejo proteína-ligando entre el mGluR1 y el Aspartame.

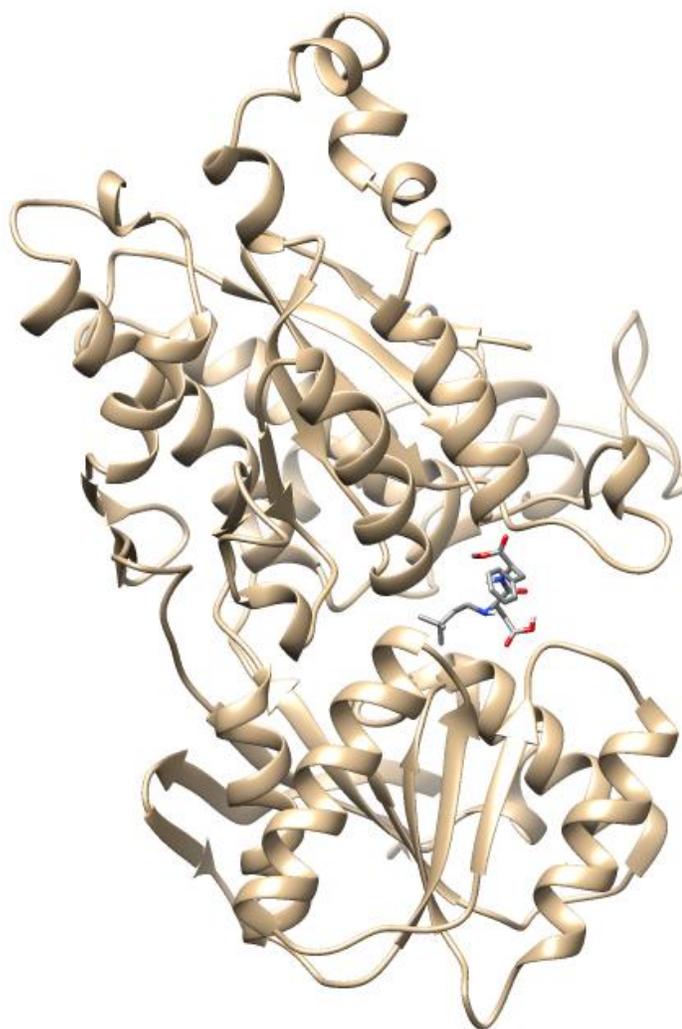


Representación del complejo P-L en el que se observa al aspartame en el sitio de unión y las principales interacciones hidrofóbicas y puentes de hidrógeno de la conformación más estable con el mGluR1 obtenida en LIGPLOT.

El complejo P-L correspondiente al Neotame se observa en las Figuras 15 y 16, dicha conformación es la más estable de las obtenidas en Autodock4, el Neotame presenta interacciones hidrofóbicas con los

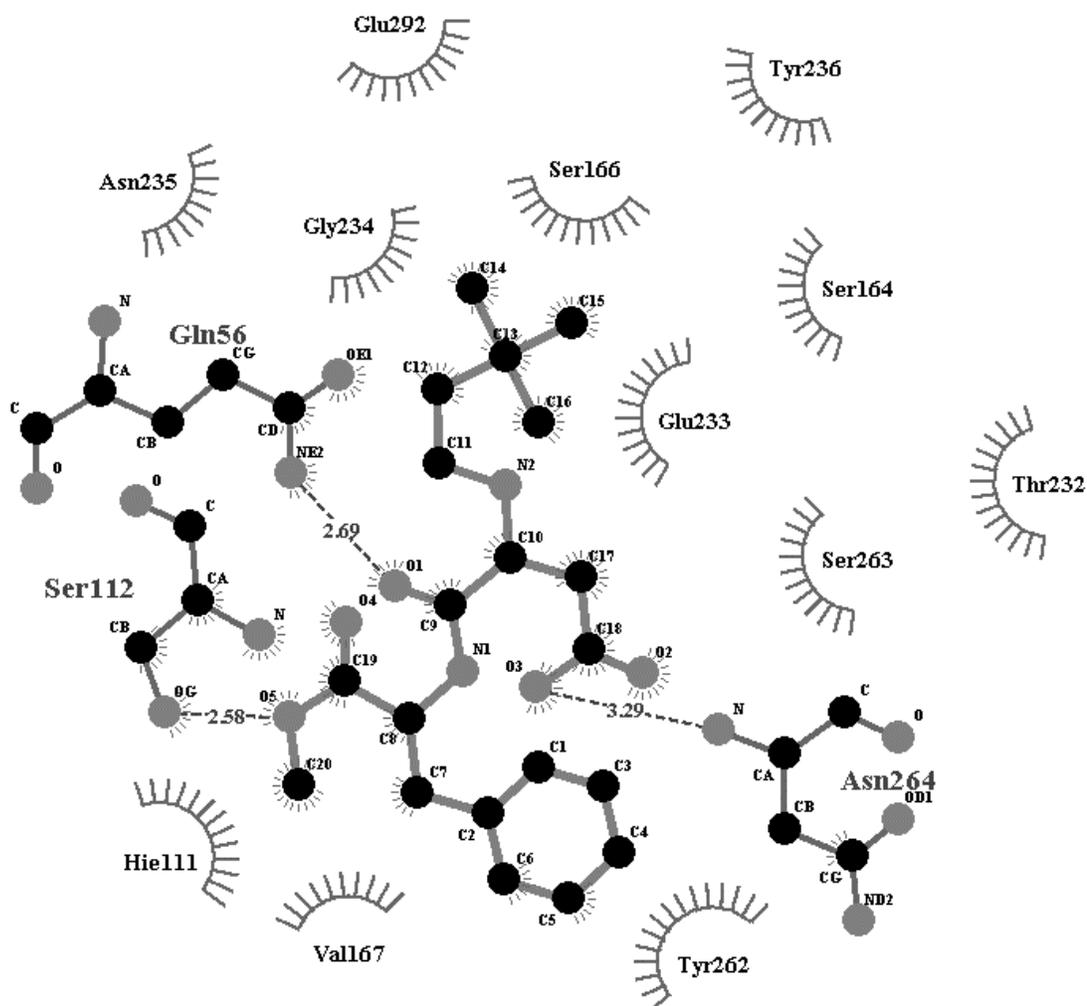
residuos: Hile111, Ser164, Ser166, Val167, Thr232, Glu233, Gly234, Asn235, Tyr236, Tyr262, Ser263 y Glu292. Las interacciones de tipo puentes de hidrógeno se presentan con los aminoácidos Gln56, Ser112 y Asn264.

Figura 15. Diagramas del complejo proteína-ligando entre el mGluR1 y el Neotame.



Representación del complejo P-L en el que se observa el Neotame en el sitio de unión en su conformación más estable con el mGluR1 obtenida en UCSF Chimera.

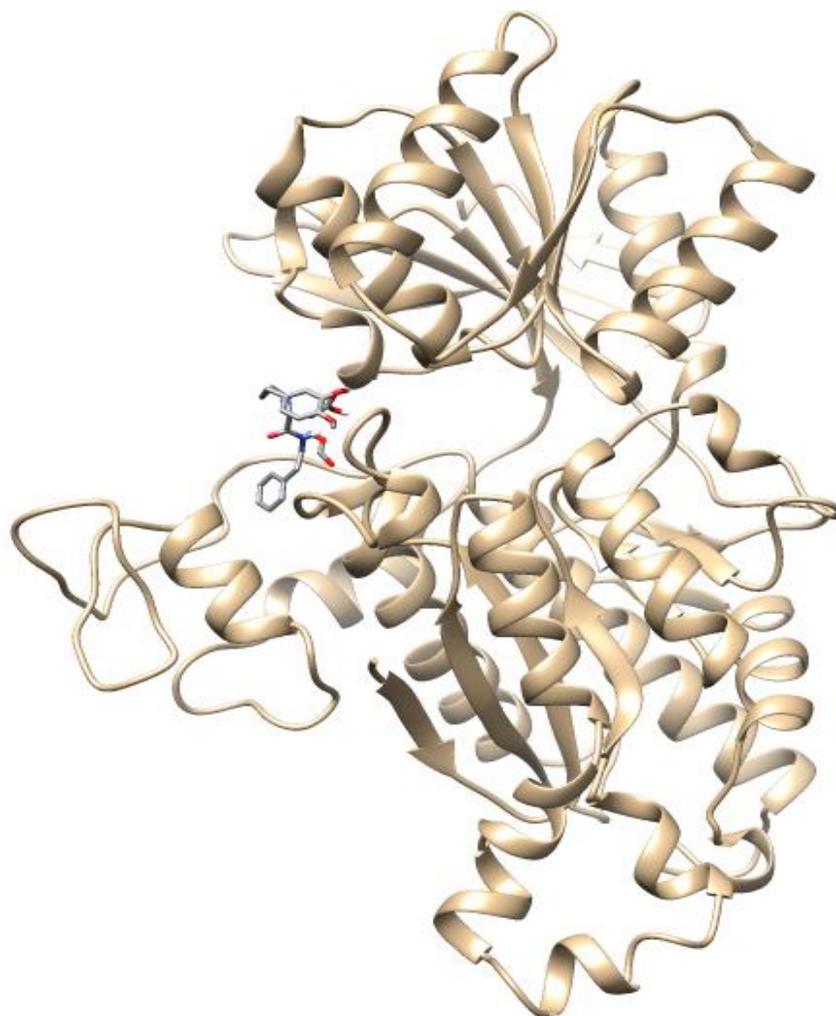
Figura 16. Diagramas del complejo proteína-ligando entre el mGluR1 y el Neotame.



Representación del complejo P-L en el que se observa al Neotame en el sitio de unión y las principales interacciones hidrofóbicas y puentes de hidrógeno de la conformación más estable con el mGluR1 obtenida en LIGPLOT.

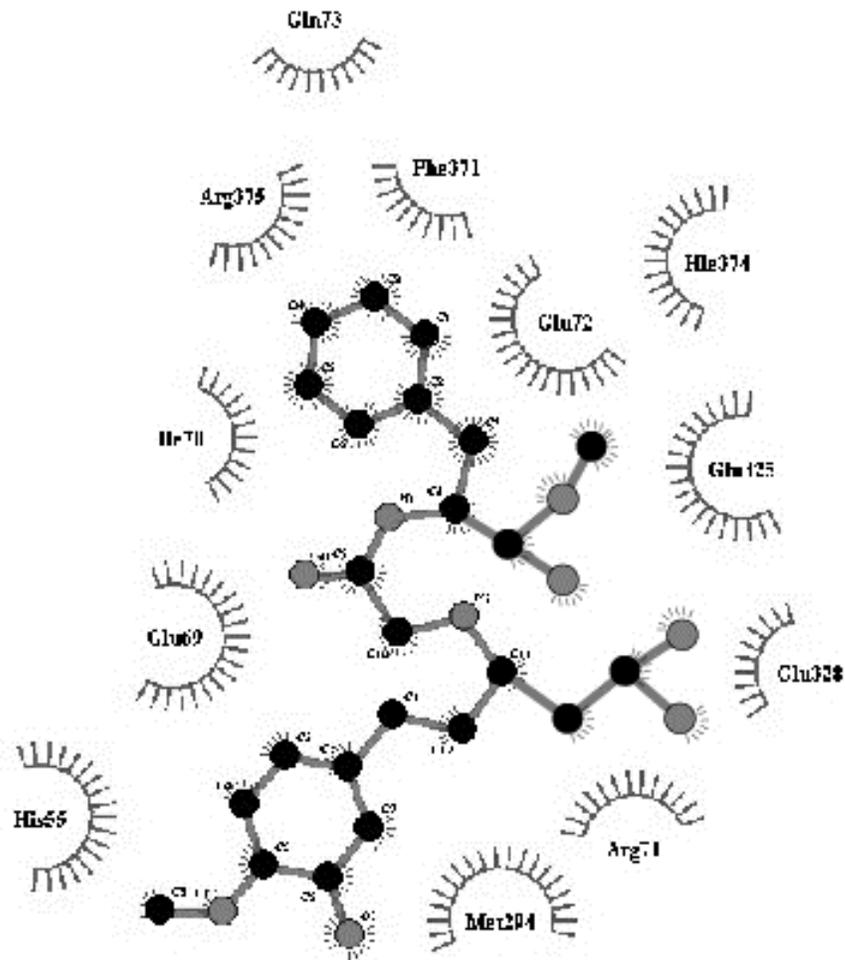
El último edulcorante no calórico presente en la industria alimentaria que se probó en estudios de acoplamiento molecular fue el Advantame, el complejo P-L representado en la Figura 17 presentó interacciones hidrofóbicas con los residuos: His55, Glu69, Ile70, Arg71, Glu72, Gln73, Met294, Glu325, Glu328 y Arg375 pero no se obtuvieron interacciones de tipo puente de hidrógeno como se observa en la Figura 18.

Figura 17. Diagrama del complejo proteína-ligando entre el mGluR1 y el Advantame



Representación del complejo P-L en el que se observa el Advantame en el sitio de unión en su conformación más estable con el mGluR1 obtenida en UCSF Chimera.

Figura 18. Diagrama del complejo proteína-ligando entre el mGluR1 y el Advantame



Representación del complejo P-L en el que se observa al Advantame en el sitio de unión y las principales interacciones hidrofóbicas y puentes

de hidrógeno de la conformación más estable con el mGluR1 obtenida en LIGPLOT.

Con respecto a los cálculos de energía y optimización se obtuvieron los datos mostrados en el ANEXO IV con los cuales se calculó la media aritmética y la diferencia energética entre sí mismos antes y después de llevarse a cabo una optimización geométrica, los resultados se presentes en la Tabla 2.

Tabla 2. Media aritmética de los resultados de frecuencia obtenidos antes y después de optimizar cada uno de los ligandos.

Compuesto	ΔEnergía en la teoría PBE [Kcal/mol]	ΔEnergía en la teoría B3LYP [Kcal/mol]	ΔEnergía en la teoría M062x [Kcal/mol]
1	58.17	56.41	53.00
2	106.47	104.85	93.37
3	119.54	113.31	108.50
4	80.29	75.11	64.66
5	76.04	71.99	65.12
6	83.49	76.98	73.85
7	55.85	53.18	51.47
8	72.12	41.95	41.87

9	47.15	49.69	41.97
10	64.02	61.25	48.91
11	135.34	69.61	64.24
12	74.45	74.07	67.82
13	42.47	40.81	36.45
14	65.32	61.74	49.47

Análisis de resultados

Con los resultados obtenidos de las probabilidades de actividad biológica para cada compuesto presente en la industria alimentaria es preciso afirmar que este análisis no puede utilizarse como un discriminante a la hora de predecir si una molécula tendrá o no una propiedad de interés, pues en el caso del aspartame que es un edulcorante bien conocido en la industria alimentaria la probabilidad de presentar dicha actividad biológica no supera el 45%, sin embargo, el PE de los compuestos ya comercializados presentó una correlación directa con su Pa, lo que quiere decir que las modificaciones realizadas a lo largo de los años en el aspartame han dado como resultado compuestos que son más parecidos a moléculas que presentan una estructura con actividad de edulcorante.

De las moléculas que se propusieron en este trabajo los compuestos 4, 5, 6 y 9 son más parecidos a otros con gusto dulce, estas estructuras presentan cada vez un mayor carácter hidrofóbico pues se

modifican las cadenas alifáticas variando en un átomo de carbono entre cada una mientras que en el número 6, se presenta una ramificación haciéndolo más voluminoso. Las moléculas resultantes de la modificación del aspartame de igual forma presentan un mayor carácter hidrofóbico que se puede traducir como un mayor PE.

Las moléculas que se modificaron con residuos hidrofílicos (grupos amino) presentaron una menor Pa como edulcorante por lo que se propone que las modificaciones que se deben realizar a la molécula de aspartame tienen que aumentar el carácter hidrofóbico de la molécula además de ser voluminosos y así poder obtener un edulcorante más potente.

De las conformaciones obtenidas para las cadenas del mGluR1 se utilizó la conformación correspondiente al resultado número 12 debido a que el receptor se presenta como una proteína dimérica y las cadenas deben ser iguales, presentando la misma energía en cada una de las cadenas. De todas las conformaciones, la ya mencionada, presentó la menor diferencia energética entre la cadena A y la cadena B (22.87 kcal/mol) lo cual significa que ambas poseen una menor diferencia conformacional entre si y están modeladas con aproximaciones más apegadas a la realidad.

Es bien conocido el PE de los principales edulcorantes analizados en el presente trabajo, sin embargo, dentro de los estudios de acoplamiento molecular no se logró observar una correlación entre dicha actividad biológica y la energía de enlace en el complejo P-L la cual es la principal propiedad que se obtiene de los cálculos en Autodock4 (Ver Figura 19). No obstante, el software también arroja otros parámetros, dentro de los cuales se encuentra la energía de torsión que presenta el

ligando dentro del complejo P-L, en esta propiedad fue en la única en que se observó una tendencia entre los edulcorantes ya comercializados que corresponde con el PE de dichos aditivos como se observa en la Figura 20.

Figura 19. Gráfico de los resultados de energía de enlace en el estudio de acoplamiento molecular en Autodock4.

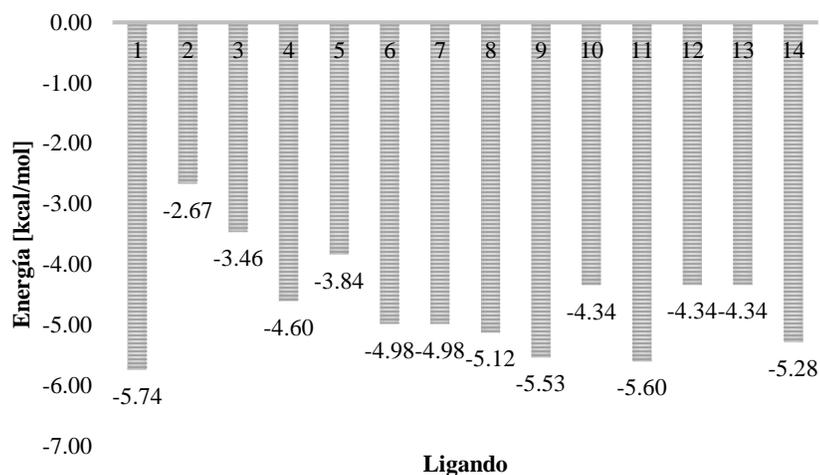
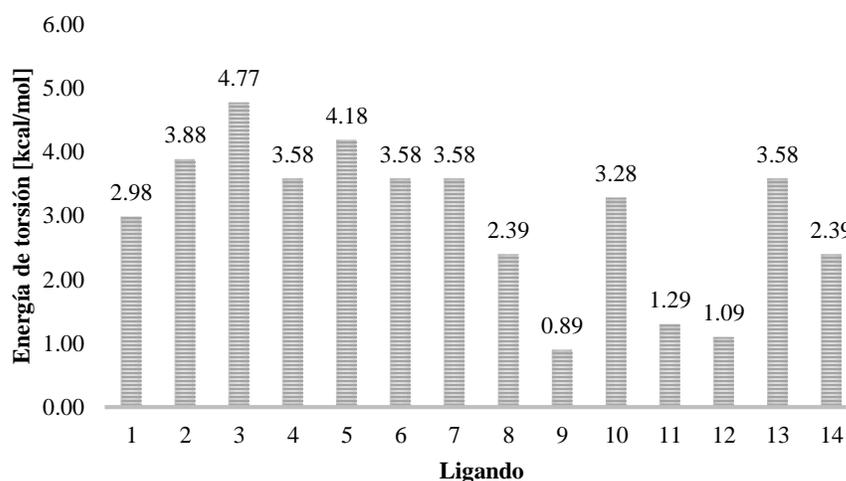


Figura 20. Gráfico de los resultados de energía de torsión en el estudio de acoplamiento molecular en Autodock4.



Con los resultados obtenidos de la energía de torsión, la tendencia entre los valores para el aspartame (2.98 kcal/mol), neotame (3.88 kcal/mol) y advantame (4.77 kcal/mol) es ascendente al igual que el poder edulcorante de cada uno: 100-200, 7000-13000 y 20000-40000 respectivamente.

Con base en lo anterior se propone la premisa de que cuando una molécula en interacción con su receptor presenta una alta torsión la respuesta a dicho compuesto será mayor, pues la variación entre la conformación de la proteína en el completo P-L y en su estado libre es muy grande.

Como se observó anteriormente las interacciones del tipo puente de hidrógeno en los edulcorantes ya comercializados se ven disminuidas por el aumento del carácter hidrofóbico, pues al verse impedidas estéricamente por grupos no polares de gran tamaño resulta en una tensión dentro de la molécula que si bien no logra formar interacciones puente de hidrógeno si se obtiene una mayor interacción con la proteína en residuos no polares.

Otra posible forma de explicar la respuesta ante diferentes moléculas con la misma actividad biológica es que al ser moléculas cada vez más grandes, logran interactuar con residuos que, como en el caso del aspartame no se logran alcanzar, por ejemplo: Ser164, Glu233, Gly234, Asn235, residuos que pueden tener una mayor influencia en la respuesta del receptor ante el gusto dulce o que con estos aminoácidos se logre estimular diferentes regiones del cerebro.

Observadas estas correspondencias se analizaron los datos de los derivados estructurales propuestos y se dictaminó que la energía de

torsión mínima que debe superarse para presentar un poder edulcorante superior al aspartame es 2.98 kcal/mol. De los ligandos propuestos para este trabajo los que superaron dicho valor son los compuestos: 4, 5, 6, 7, 10 y 13 siendo el compuesto número 5 con 4.18 kcal/mol el más próximo al Advantame (4.77 kcal/mol), compuesto que presenta un poder edulcorante de entre 20000 y 40000 veces el de la sacarosa y como ya se mencionó una PA de 61.5%.

De acuerdo a lo observado en los cálculos mecánico cuánticos realizados en Gaussian 16 se comprueba por medio de diferentes niveles de teoría (PBE, B3LYP y M062X) que los ligandos en el complejo P-L se encuentran sometidos a una torsión. Para el análisis de estos datos se utilizó el funcional híbrido de Truhlar y Zao (M062X) pues dentro de los niveles de teoría empleados este corresponde a un método híbrido meta-GGA que emplea un 57% de intercambio HF, siendo mucho mayor a los otros dos, sin embargo, en el funcional de intercambio Perdew, Burkee y Ernzerhof y el funcional híbrido Becke Three Parameter Hybrid Functional se observa la misma tendencia en la torsión de los compuestos tal cual se muestra en la Figura 21.

Una vez analizados los múltiples parámetros obtenidos en los estudios realizados para los derivados estructurales del aspartame, el compuesto que se apega de mejor manera al perfil de un aditivo con mayor poder edulcorante es el número 5. Observando la Figura 22. Se aprecia el complejo P-L correspondiente a la conformación más estable obtenida por medio de Autodock4, dicho arreglo posee interacciones hidrofóbicas con los residuos: His55, Tyr74, Trp110, Ser263, Asn264, Gly293, Met294 y Arg323, mientras que presenta puentes de hidrógeno con Gln56 y Arg71 que se pueden apreciar en la Figura 23.

Figura 21. Gráfico de la media aritmética en la diferencia de energía para cada uno de los ligandos en el complejo P-L y en la optimización geométrica utilizando el funcional híbrido Truhlar y Zao (M062X).

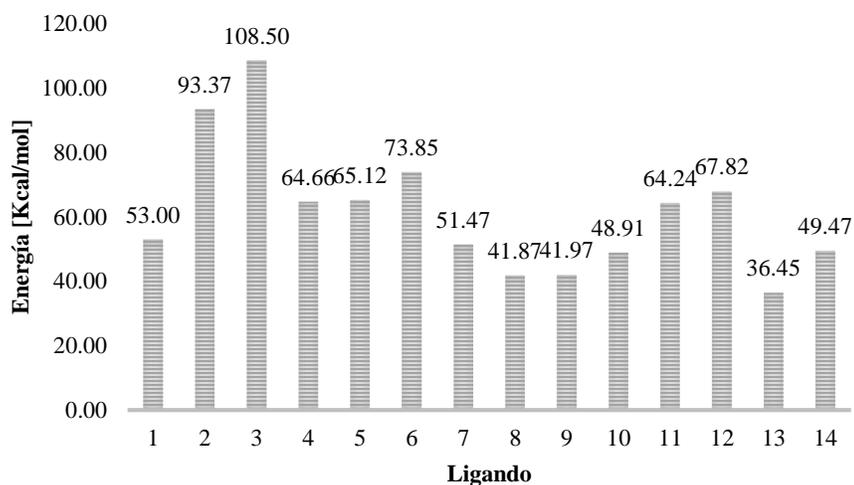
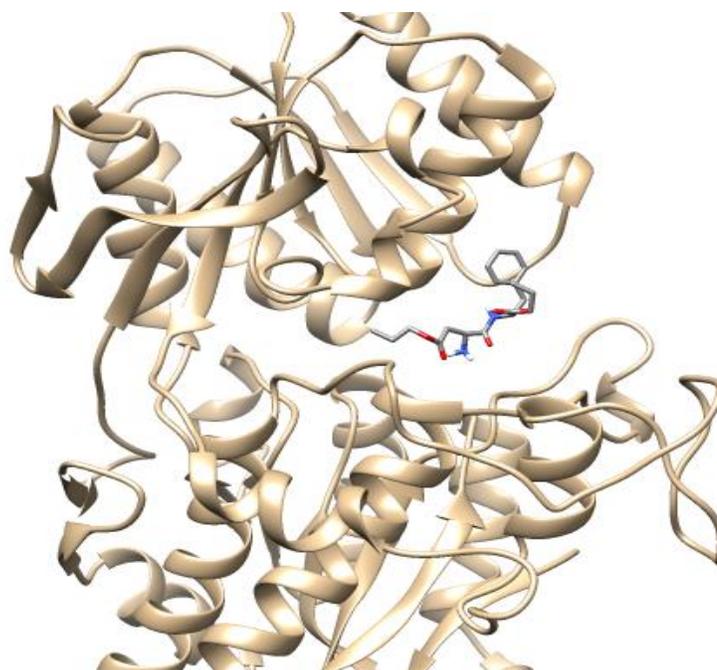
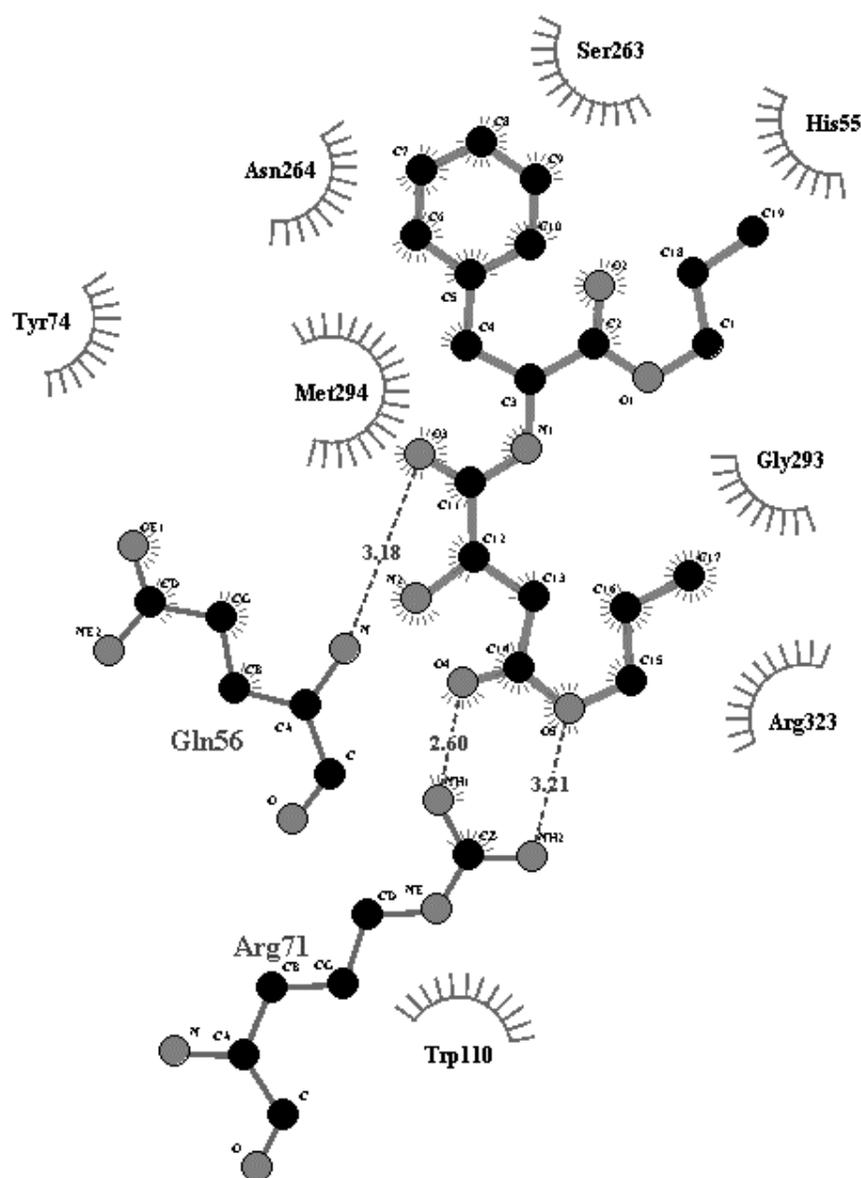


Figura 22. Diagrama del complejo proteína-ligando entre el mGluR1 y el compuesto número 5.



Representación del complejo P-L en el que se observa el compuesto número 5 en el sitio de unión en su conformación más estable con el mGluR1 obtenida en UCSF Chimera.

Figura 23. Diagrama del complejo proteína-ligando entre el mGluR1 y el compuesto número 5.



Representación del complejo P-L en el que se observa al compuesto número 5 en el sitio de unión y las principales interacciones hidrofóbicas

y puentes de hidrógeno de la conformación más estable con el mGluR1 obtenida en LIGPLOT.

Debido a que el compuesto número 5 es el que mejor se apega a un eficiente edulcorante, se propone una ruta de síntesis del compuesto mencionado, para lo que es necesario proteger el grupo amino del ácido aspártico con $(\text{Boc})_2\text{O}$, como segundo paso se agrega fenilalanina logrando la unión de ambos aminoácidos. Obtenido el dipéptido se activan los grupos carboxilos por medio de cloruro de tionilo y logrando una esterificación con propanol, finalmente el grupo amino debe ser desprotegido con HCl y ácido acético obteniendo así el compuesto número 5, la ruta de síntesis antes mencionada se muestra en la Figura 24

El código SMILE del compuesto número 5 se colocó en XenoSite para predecir la posible biotransformación del compuesto, dichos procesos pueden seguir dos rutas diferentes, el primero y más probable comprende reacciones de fase I como es la hidrólisis de los grupos éster con la liberación de propanol y N-(L- α -Aspartil)-L-fenilalanina, dipéptido para el cual se describió la ruta biológica en la biotransformación del aspartame; se hidroliza por enzimas y son incorporadas a proteínas o siguen su respectiva ruta metabólica, mientras que el propanol por medio de una reacción de fase II es conjugado con ácido glucurónico como se muestra en la Figura 25 para ser eliminado fácilmente por la orina o la bilis. En el segundo caso se lleva a cabo directamente la reacción de fase II por una UDPG conjugación directamente en el grupo α -amino del aspartato y así eliminar el compuesto completo por la orina como se observa en la Figura 26. En ambos casos el compuesto número 5 no presentaría un riesgo potencial pues el propanol se eliminaría conjugado, agregando que las concentraciones liberadas de dicho compuesto serían

muy bajas debido a la cantidad de edulcorante empleado en un producto.

[35]

Figura 24. Propuesta de síntesis para el compuesto número 5.

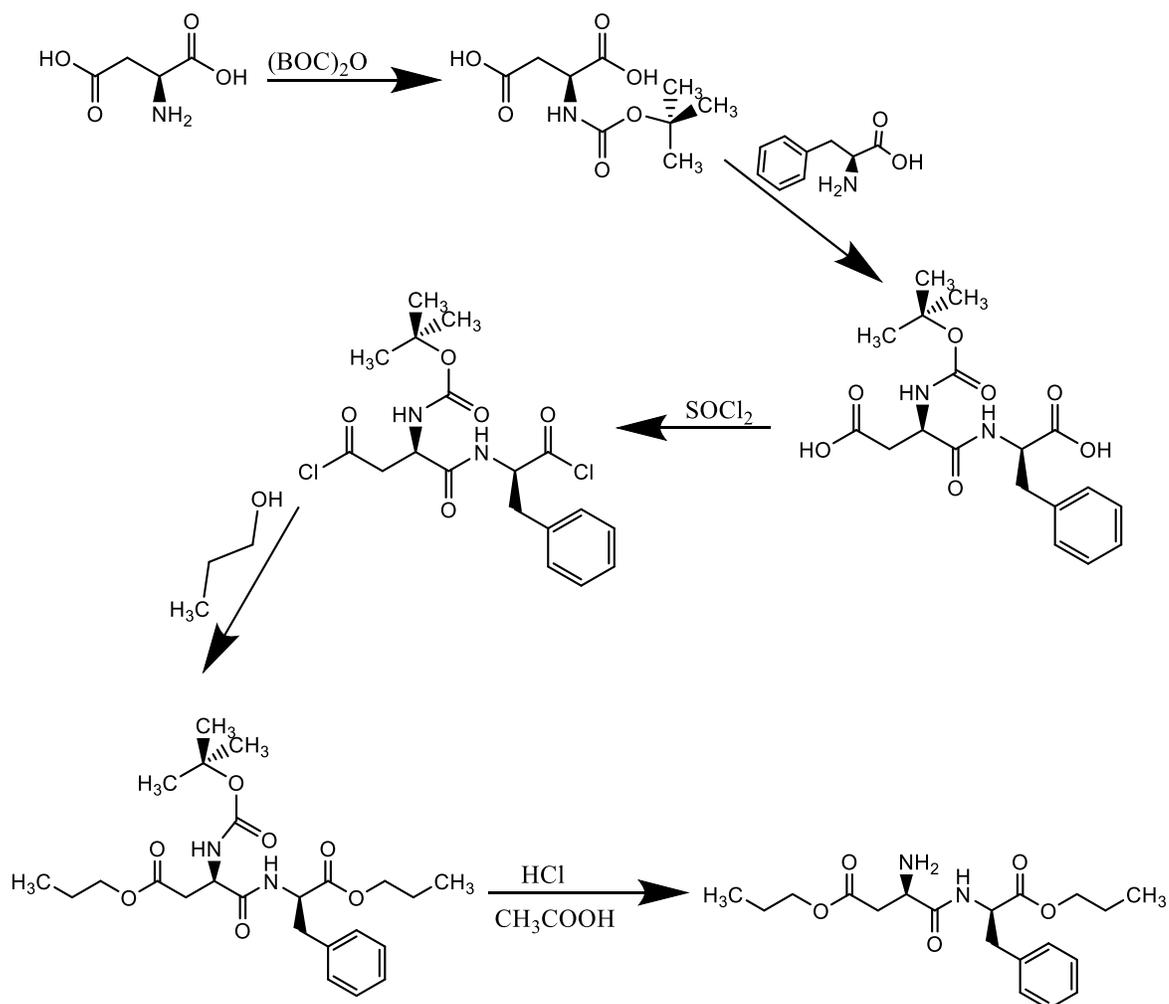


Figura 25. Principal proceso de biotransformación del compuesto número 5.

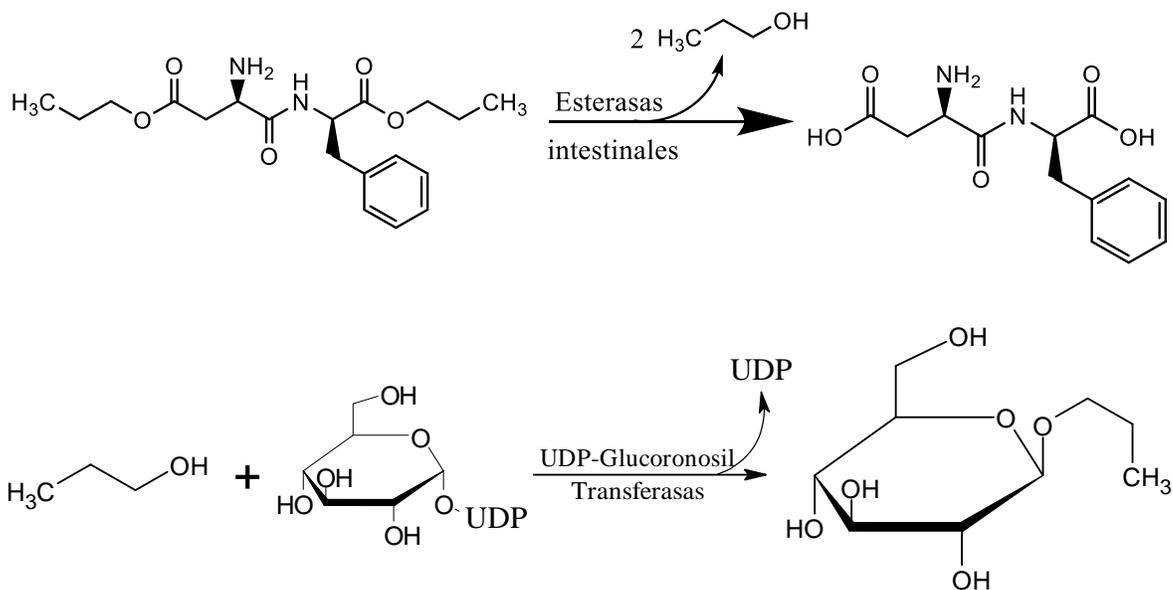
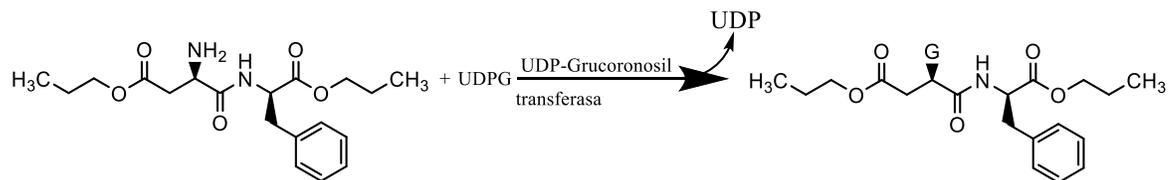


Figura 26. Proceso de biotransformación alternativo para el compuesto número 5.



Conclusiones

Se propusieron diferentes derivados estructurales que tienen como base el aspartame, de los cuales el N-(L- α -Aspartato, 4-propil éster)-L-fenilalanina, 1-propil éster presentó un perfil que cumple de forma más completa con las tendencias observadas en los edulcorantes ya conocidos por la industria alimentaria y por lo tanto se propone que podría llegar a ser empleado como un edulcorante no calórico. Con la propuesta de síntesis para dicho compuesto se pueden continuar con estudios de obtención en un laboratorio para su posterior análisis toxicológico y finalmente lograr su empleo como alternativa de edulcorante no calórico.

Con base en los análisis realizados a los compuestos propuestos también se pueden realizar diversos estudios para emplear dichos aditivos con una finalidad diferente a la de endulzar productos, llegando incluso a presentar una aplicación en campos ajenos a la industria alimentaria como por ejemplo en la farmacéutica pues las propuestas realizadas presentan otras posibles actividades biológicas con una Pa mucho mayor en relación a la actividad edulcorante.

El PE no se relaciona directamente con la energía de enlace entre el ligando y el receptor, pero sí se observa una relación con la energía de torsión, proponiendo la idea de que mientras mayor sea la torsión a la que se somete el ligando, el poder edulcorante de una molécula puede ser cada vez más elevado, además dicha torsión depende también del carácter hidrofóbico de la molécula empleada como ligando.

Finalmente se exhorta a la comunidad científica a profundizar en la investigación de los mecanismos de acción para los sentidos básicos como el gusto y su relación con el campo de la neurología para así poder diseñar

de una forma más eficiente nuevos fármacos o aditivos alimentarios minimizando los efectos adversos de dichas moléculas.

Bibliografía

1. Agroindustria, S. Edulcorantes. Alimentos dietéticos, Código alimentario Argentino 2014, 1-4.
2. Aspartame.org. Aspartame.org [online]. 2023, recuperado de <http://www.aspartame.org/pdf/2009Aspartamebrochure.pdf> el 20 de enero del 2023
3. Ballón, P.; Grados torres, G.; Enrique, R. Acoplamiento molecular: criterios prácticos para la selección de ligandos biológicamente activos e identificación de nuevos blancos terapéuticos. *Rev.Cs.Farm y Bioq*, 2019, 7, 55-57.
4. Cramer, B.; Ikan, R. Properties and syntheses of sweetening agents. *Amer. Chem. Soc.* 1979, 4, 431-565.
5. Educativa, I. L. Biblioteca virtual del ILCE. Recuperado el 20 de enero del 2023 de: <http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx/Colecciones/index.php?clave=cVaSentidos&pag=10>
6. FAO. Norma general para los aditivos alimentarios. En *Codex Alimentarius, Normas internacionales de los alimentos*, pág. 3.
7. Faravelli, G. Advantame de ajinomoto, nueva generación de edulcorantes. *Techfood, Rev. Tech. Alim.* 2017, 90-91.
8. Fuentes, A.; Fresno, M. J.; Santander, H.; Valenzuela, S.; Gutiérrez, M. F.; Miralles, R. Sensopercepción gustativa: una revisión. *Int. J. Odontosomat*, 2010, 161-168.

9. Fuentes, A.; Fresno, M. J.; Santander, H.; Valenzuela, S.; Gutiérrez, M. F.; Miralles, R. Sensopercepción olfatoria: una revisión. *Rev. Med, Chi.* 2011, 161-168.
10. García, J. L.; Alandí, M.; Bergliter, D.; Hernández de Luján, S. Aditivos alimentarios. Los grandes desconocidos. Distribución y consumo. 2008, 80-86.
11. García, F. Metode.es. gusto y olfato de la supervivencia al placer, Recuperado de <https://metode.es/revistas-metode/monograficos/gusto-y-ofalto-de-la-supervivencia-al-placer.html> el 26 de enero del 2023.
12. GreenFacts. GreenFacts.org. Aspartame. Recuperado de <https://www.greenfacts.org/es/aspartamo/aspartamo-greenfacts.pdf> el 20 de enero del 2023.
13. Guerrero, T.; Mora G. Possible health risk to the consumption of aspartame. *Enfoque UTE.* 2014, 1-13.
14. Hernández, M. L.; Díaz, S. La bioquímica y fisiología del sabor. *REB.* 2019,100-104.
15. Hill, J. B.; Gelman, Y.; Dryden, H. L.; Erickson, R.; Hsu, K.; Johnson, M. R. Estados Unidos patente #5053532, 1991.
16. Honenbreg, P.; Kohn, W. Inhomogeneous electron Gas. *Phsy Rev.*1964, 136, 864-871.
17. Ibañez, F. C.; torres, P; Irigoyen, A. Aditivos alimentarios Obtenido de Universidad Pública de Navarra.
18. Ikeda, K. New seasonings, 2002, 847-849.

19. Franco, R.; Redondo, F.; Martínez, M.; Márquez, N.; Gandía, M.; Lozano, E. Ingredientes tecnológicos. Procedimiento de autorización en la Unión Europea, Cambios normativos y control oficial. 2012, 12-15.
20. Kroger, M.; Meister, K.; Kava, R. Low-Calories Sweeteners and other sugar substitutes. A review of the safety issues. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2006, 5, 35-47.
21. Kunushima, N.; Shimada, Y.; Sato, T.; Yamamoto, M.; Kumasaka, T.; Morikawa, K. Structural basis of glutamate recognition by dimeric metabotropic glutamate receptor. *Nature*, 2002, 407, 971-977.
22. Malliet, E. L.; Cui, M. P.; Mezei, M.; Hetch, E.; Quijada, J.; Max, M. Characterization of the binding site of aspartame in human sweet taste receptor. *Chem. Senc.* 2015, 40, 577-586.
23. Martínez, O. L.; Román, M. O.; Teoría sensorial y molecular del sabor dulce. *Vitae. Revista de la Facultad de Química Farmacéutica*, 2002, 15-26.
24. Mizraj, M.; Ingver, C.; Kolenc, F. San Millan, J. El sentido del gusto. *Actas odontológicas. (Publicación descontinuada)*, 2011, 5-14.
25. Morales, J. M.; Mingo, E. M.; Caro, M. A. Fisiología del gusto, En S. PCF, Libro de formación en Otorrinolaringología. 2019, 1-8.
26. Muñoz, J.; Alfaro, M. C.; Zapata, I. Avances en la formulación de emulsiones, *Grasas y aceites*, 2007, 64-73.
27. Nelson, G.; Chandrasekar, J.; Hoon, M. A.; Feng, L.; Zuker, C. S. An amino-acid taste receptor. *Letters to nature*, 2002, 199-202.

28. Pérez, T.; Acosta, N.; Gamboa, A.; Cavasotto, C. N. High-throughput and insilico screenings in drgu discovery. Expert opinion. Drug Discovery, 2009, 947-959.
29. Ranner, R. E.; Opperman, J. A.; Muldoon, E.; McMahon, F. G. Comparative metabolism of aspartame in experimental animals an humans. J. Toxicol Environ Health. 1976, 2,441-451.
30. Rubio, J. M.; Los sentidos, el tacto. El tacto, los sentidos y el sentir, 2007, 7-11.
31. Sali, A.; Blundell, T. L. Comparative protein modeling by satisfaction of spatial restraints. J Mol. Biol. 1993, 234, 779-815.
32. Smith, D.; Margolskee, R. El sentido del gusto, Inv. Ci. 2001, 4-12.
33. Solorzano, M. La importancia de una buena visión. Rev. Elec. Gest. & Sa. 2012, 942-952.
34. Thomassin, J. M.; Dessi, P.; Danvin, J. B.; Forman, C. Anatomía del oído medio EMC-Otorrinolaringología, 2000, 1-20.
35. Valle, P.; Florentino, B. L.; Proceso de biotransformación. En Toxicología de alimentos. Instituto de Salud Pública. 2000, 46-52.
36. Wennes, M. Potenciadores del sabor. Inv. Ci. 2008, 5, 54-57.

ANEXO I.

Probabilidad de actividad para diferentes posibles actividades biológicas del aspartame y para cada uno de los derivados estructurales del mismo.

Actividad biológica	1	2	3	4	5	6	7
	Probabilidad de actividad						
Acrocylindropepsin inhibitor	0.925	0.873	0.772	0.799	0.813	0.843	0.627
Biotinidase inhibitor	0.814	0.632	0.470	0.732	0.713	0.812	0.709
Chymosin inhibitor	0.925	0.873	0.772	0.799	0.813	0.843	0.627
Enteropeptidase inhibitor	0.835	0.744	0.677	0.702	0.668	0.850	0.542
Fusarinine-C ornithinesterase inhibitor	0.825	0.671	0.429	0.654	0.624	0.654	0.582
GST A substrate	0.803	0.555	0.409	0.746	0.760	0.754	0.545
Mucositis treatment	0.930	0.818	0.906	0.857	0.866	0.840	0.833
Peptide agonist	0.823	0.755	0.723	0.793	0.784	0.823	0.752
Peptide alpha-N-acetyltransferase inhibitor	0.803	0.420	0.295	0.907	0.823	0.757	0.642

Phobic disorders treatment	0.852	0.703	0.352	0.701	0.736	0.575	0.708
Polyporopepsin inhibitor	0.952	0.937	0.648	0.898	0.907	0.902	0.695
Pro-opiomelanocortin converting enzyme inhibitor	0.932	0.915	0.793	0.780	0.792	0.844	0.669
Protein-disulfide reductase (glutathione) inhibitor	0.895	0.871	0.645	0.932	0.873	0.899	0.684
Pseudolysin inhibitor	0.800	0.675	0.489	0.715	0.686	0.741	0.673
Saccharopepsin inhibitor	0.925	0.873	0.772	0.799	0.813	0.843	0.627
Sweetener	0.441	0.534	0.613	0.613	0.615	0.567	0.255

En esta tabla se muestran los valores de probabilidad de actividad en una escala de 0-1 para quince actividades biológicas del aspartame y cada uno de los derivados estructurales del mismo.

1: Aspartame

2: Neotame

3: Advantame

4: Derivado estructural (N-(L- α -Aspartato, 4-etil éster)-L-fenilalanina, 1-etil ester)

5: Derivado estructural (N-(L- α -Aspartato, 4-propil éster)-L-fenilalanina, 1-propil éster)

6 Derivado estructural (N-(L- α -Aspartato, 4-isopropil éster)-L-fenilalanina, 1-isopropil éster)

7: Derivado estructural (N-(L- α -Aspartato, 4-dimetilamida)-L-fenilalanina, 1-dimetilamida)

Actividad biológica	8	9	10	11	12	13	14
	Probabilidad de actividad						
Acrocylindropepsin inhibitor	0.610	0.883	0.716	0.735	0.873	0.627	0.610
Biotinidase inhibitor	0.658	0.701	0.549	0.511	0.751	0.709	0.658
Chymosin inhibitor	0.610	0.883	0.716	0.735	0.873	0.627	0.610
Enteropeptidase inhibitor	0.623	0.670	0.608	0.636	0.750	0.542	0.623
Fusarinine-C ornithinesterase inhibitor	0.660	0.805	0.587	0.555	0.593	0.582	0.660
GST A substrate	0.580	0.730	0.675	0.689	0.694	0.545	0.580
Mucositis treatment	0.792	0.938	0.829	0.879	0.829	0.833	0.792
Peptide agonist	0.706	0.801	0.723	0.730	0.794	0.752	0.706
Peptide alpha-N-acetyltransferase inhibitor	0.682	0.725	0.840	0.663	0.662	0.642	0.682
Phobic disorders treatment	0.667	0.756	0.613	0.657	0.464	0.708	0.667
Polyporopepsin inhibitor	0.697	0.924	0.852	0.865	0.992	0.695	0.697

Pro-opiomelanocortin converting enzyme inhibitor	0.709	0.887	0.735	0.797	0.873	0.669	0.709
Protein-disulfide reductase (glutathione) inhibitor	0.749	0.872	0.944	0.896	0.896	0.684	0.749
Pseudolysin inhibitor	0.728	0.766	0.710	0.681	0.736	0.673	0.728
Saccharopepsin inhibitor	0.610	0.883	0.716	0.735	0.873	0.627	0.610
Sweetener	0.235	0.568	0.412	0.458	0.484	0.255	0.235

En esta tabla se muestran los valores de probabilidad de actividad en una escala de 0-1 para quince actividades biológicas del aspartame y cada uno de los derivados estructurales del mismo.

8: Derivado estructural (N-(L- α -Aspartato, 4-dietilamida)-L-fenilalanina, 1-dietilamida)

9: Derivado estructural (N-(L- α -Asparagil)-L-fenilalanina, 1-metil ester)

10: Derivado estructural (N-(L- α -Asparagil, 4-etil éster)-L-fenilalanina, 1-etil ester)

11: Derivado estructural (N-(L- α -Asparagil, 4-propil éster)-L-fenilalanina, 1-propil éster)

12: Derivado estructural (N-(L- α -Asparagil, 4-isopropil éster)-L-fenilalanina, 1-isopropil éster)

13: (N-(L- α -Asparagil, 4-dimetilamida)-L-fenilalanina, 1-metil ester)

14: (N-(L- α -Asparagil, 4-dietilamida)-L-fenilalanina, 1-metil ester)

ANEXO II

Energías obtenidas después del modelado y optimización de la distribución espacial de los residuos faltantes en el archivo PDB.

Arreglo	Energía cadena A [Kcal/mol]	Energía cadena B [Kcal/mol]	ΔE [Kcal/mol]
1	707.99	1527.02	819.03
2	744.91	1472.25	727.34
3	828.89	1472.77	643.88
4	981.7	1473.32	491.62
5	1001.16	1472.46	471.3
6	1004.16	1569.38	565.22
7	1207.24	1509.78	302.54
8	1262.87	2150.27	887.4
9	1272.57	1474.22	201.65
10	1304.5	1470.58	166.08
11	1354.5	1467.4	112.9
12*	1599.69*	1576.82*	22.87*

13	1744.4	1473.2	271.2
14	1807.45	1471.9	335.55
15	1988.81	1518.33	470.48
16	2508.58	1473.17	1035.41
17	2579.28	1471.01	1108.27
18	2749.28	1952.28	797
19	3787.04	1479.24	2307.8

* Conformación utilizada para los estudios de acoplamiento molecular.

ANEXO III

Resultados de los estudios de acoplamiento molecular en Autodock4.

Edulcorantes existentes	E. de enlace	Eficiencia de lig.	K Inh. [mM]	E. Intermol.	E. electrostática	E. total interna	E. de torsión	E. de antienlace	Puentes de H
Aspartame	-5.74	-0.27	0.062	-8.72	-0.26	-2.3	2.98	-2.3	7
	-5.39	-0.26	0.112	-8.37	-0.25	-2.41	2.98	-2.41	5
	-4.71	-0.22	0.354	-7.69	-0.05	-3.99	2.98	-3.88	8
Neotame	-3.02	-0.11	6.16	-6.89	-0.23	-1.74	3.88	-1.74	3
	-2.75	-0.1	9.69	-6.62	-0.14	-2.12	3.88	-2.12	4
	-2.23	-0.08	23.16	-6.11	-0.18	1.78	3.88	-1.78	4
Advantame	-3.65	-0.11	-2.1	-8.43	-0.44	-3.64	4.77	-3.64	1
	-3.39	-0.1	3.29	-8.16	-0.73	-1.57	4.77	-1.57	2
	-3.34	-0.1	3.59	-8.11	-0.43	-3.74	4.77	-3.74	2

Deriv.	E. de enlace	Eficiencia de lig.	K Inh. [mM]	E. intermol.	E. electrostática	E. total interna	E. de torsión	E. de antienlace	Puente de H
4	-4.99	-0.21	0.22	-8.57	-0.13	-1.16	3.58	-1.16	6
	-4.48	-0.19	0.524	-8.05	-0.2	-2.16	3.58	-2.16	5
	-4.34	-0.18	0.653	-7.92	-0.23	-4.32	3.58	-4.32	2
5	-4.01	-0.15	1.15	-8.19	-0.3	-3.05	4.18	-3.05	3
	-3.59	-0.15	1.27	-8.13	0.02	-2.87	4.18	-2.87	3
	-3.91	0.15	1.35	-8.09	-0.02	-3.03	4.18	-3.03	3
6	-5.26	-0.2	0.139	-8.84	-0.14	-1.82	3.58	-1.82	5
	-5.05	-0.19	0.199	-8.63	-0.06	-1.52	3.58	-1.52	4
	-4.63	-0.18	0.402	-8.21	0.1	-1.35	3.58	-1.35	4
7	-5.63	-0.23	0.074	-8.02	0.07	-1.04	2.39	-1.04	0
	-4.97	-0.21	0.228	-7.35	-0.06	-4	2.39	-4	4
	-4.77	-0.2	0.317	-7.16	0.01	-3.49	2.39	-3.49	1
8	-5.62	-0.2	0.076	-9.2	-0.03	-2.45	3.58	-2.45	0
	-4.89	-0.17	0.259	-8.47	-0.02	-2.56	3.58	-2.56	0
	-4.43	-0.16	0.563	-8.01	-0.03	-4.27	3.58	-4.27	0
9	-7	-0.33	0.007	-9.68	-0.72	-2.07	2.68	-2.07	6
	-5.19	-0.24	0.188	-7.77	-0.17	-2.84	-2.68	-2.84	3
	-4.41	-0.21	0.587	-7.09	-0.06	-3.5	2.68	-3.54	2
10	-4.96	-0.21	0.23	-8.24	-0.8	-2.97	3.28	-2.97	0

	-4.29	-0.18	0.719	-7.57	-0.25	-3.53	3.28	-3.53	0
	-3.77	-0.16	1.72	-7.05	-0.18	-3.68	3.28	-3.68	0
11	-6.67	-0.25	0.018	-10.35	-0.31	-2.89	3.88	-2.89	6
	-5.46	-0.21	0.099	-9.34	-0.18	-2.92	-3.88	-2.92	2
	-4.68	-0.18	0.372	-8.56	-0.13	-3.8	3.88	-3.8	2
12	-4.47	-0.18	0.319	-8.05	-0.01	-2.61	-3.28	-2.61	0
	-4.47	-0.17	0.53	-7.75	-0.03	-3.7	3.28	-3.7	0
	-4.07	-0.16	1.04	-7.35	0	-2.97	3.28	-2.97	0
13	-5.88	-0.25	0.049	-8.27	-0.09	-2.38	2.39	-2.38	0
	-5.18	-0.22	0.16	-7.56	-0.14	3.18	2.39	3.18	0
	-4.79	-0.2	0.31	-7.17	-0.02	-3.26	2.39	-3.26	0
14	-5.37	-0.19	0.115	-8.95	-0.06	-3.07	3.58	-3.07	0
	-4.14	-0.15	0.929	-7.72	-0.08	-3.63	3.58	-3.63	0
	-3.5	-0.13	2.72	-7.08	-0.04	3.69	3.58	3.69	0

ANEXO IV

Resultados obtenidos de los cálculos de energía y optimización de los edulcorantes comerciales y derivados estructurales del aspartame.

PBE

Comp.	E. sin optimización [Ha]	E. sin optimización [Kcal/mol]	E. con optimización [Ha]	E. con optimización [Kcal/mol]
1	-1028.497012	-645391.1315	-1028.59468	-645452.4191
	-1028.545136	-645421.3297	-1028.61241	-645463.5448
	-1028.493836	-645389.1385	-1028.606997	-645460.1481
2	-1263.813773	-793054.5169	-1264.004521	-793174.213
	-1263.848429	-793076.2638	-1263.98851	-793164.1659
	-1263.812536	-793053.7407	-1263.990731	-793165.5596
3	-1566.310034	-982873.6431	-1566.510813	-982999.6338
	-1566.293885	-982863.5095	-1566.523452	-983007.5648
	-1566.371842	-982912.4282	-1566.512983	-983000.9954
4	-1146.162333	-719227.1794	-1146.307758	-719318.4349
	-1146.175138	-719235.2147	-1146.306888	-719317.889
	-1146.19734	-719249.1466	-1146.304011	-719316.0836
5	-1224.651249	-768479.6806	-1224.772204	-768555.581
	-1224.660257	-768485.3332	-1224.77658	-768558.3269

	-1224.650688	-768479.3286	-1224.77694	-768558.5528
6	-1224.642405	-768474.1309	-1224.77271	-768555.8985
	-1224.643223	-768474.6442	-1224.782826	-768562.2464
	-1224.663578	-768487.4172	-1224.792804	-768568.5076
7	-1106.424073	-694291.0636	-1106.543639	-694366.0924
	-1106.483324	-694328.2442	-1106.552765	-694371.819
	-1106.473657	-694322.178	-1106.551666	-694371.1294
8	-1263.3826	-792783.9519	-1263.503257	-792859.6653
	-1263.394768	-792791.5875	-1263.505037	-792860.7823
	-1263.386369	-792786.317	-1263.500255	-792857.7815
9	-1008.633336	-632926.496	-1008.72962	-632986.9151
	-1008.674329	-632952.2195	-1008.736871	-632991.4652
	-1008.681424	-632956.6717	-1008.748034	-632998.4701
10	-1126.322961	-706777.7949	-1126.440823	-706851.7544
	-1126.358174	-706799.8914	-1126.449441	-706857.1623
	-1126.351484	-706795.6934	-1126.448446	-706856.5379
11	-1204.777495	-756008.7211	-1204.91864	-756097.2909
	-1204.776337	-756007.9945	-1204.905243	-756088.8841
	-1204.823551	-756037.6217	-1203.906485	-755462.1545
12	-1204.776392	-756008.029	-1204.924664	-756101.071
	-1204.8072	-756027.3613	-1204.914511	-756094.6999

	-1204.814349	-756031.8473	-1204.914685	-756094.8091
13	-1106.486898	-694330.4869	-1106.556348	-694374.0674
	-1106.489486	-694332.1109	-1106.553489	-694372.2733
	-1106.482909	-694327.9837	-1106.552517	-694371.6634
14	-1263.399199	-792794.368	-1263.492819	-792853.1154
	-1263.389134	-792788.0521	-1263.496495	-792855.4221
	-1263.382828	-792784.095	-1263.494108	-792853.9242

B3LYP

Comp.	E. sin optimización [Ha]	E. sin optimización [Kcal/mol]	E. con optimización [Ha]	E. con optimización [Kcal/mol]
1	-1029.696309	-646143.7012	-1029.790101	-646202.5565
	-1029.747253	-646175.669	-1029.809725	-646214.8707
	-1029.690304	-646139.933	-1029.803732	-646211.1101
2	-1265.350145	-794018.6041	-1265.534568	-794134.3312
	-1265.385669	-794040.8958	-1265.522915	-794127.0189
	-1265.348471	-794017.5537	-1265.528078	-794130.2587
3	-1568.16987	-984040.707	-1568.361418	-984160.905
	-1568.152989	-984030.114	-1568.379167	-984172.0427
	-1568.237232	-984082.9772	-1568.361234	-984160.7896
4	-1147.5393	-720091.2386	-1147.670906	-720173.8226

	-1147.55008	-720098.0032	-1147.675562	-720176.7442
	-1147.570705	-720110.9455	-1147.672713	-720174.9565
5	-1226.137849	-769412.5355	-1226.243301	-769478.7076
	-1226.146429	-769417.9195	-1226.263563	-769491.4222
	-1226.141381	-769414.7518	-1226.262972	-769491.0513
6	-1226.133474	-769409.7901	-1226.253507	-769485.1119
	-1226.132307	-769409.0578	-1226.265158	-769492.423
	-1226.15965	-769426.2158	-1226.274815	-769498.4829
7	-1107.774198	-695138.2792	-1107.8899	-695210.8833
	-1107.83549	-695176.7405	-1107.900567	-695217.5769
	-1107.826405	-695171.0396	-1107.899878	-695217.1445
8	-1265.062713	-793838.238	-1265.054391	-793833.0158
	-1264.977814	-793784.9631	-1265.077341	-793847.4172
	-1264.964089	-793776.3505	-1265.073422	-793844.958
9	-1009.821897	-633672.3288	-1009.917107	-633732.0739
	-1009.861197	-633696.9899	-1009.935896	-633743.8642
	-1009.868072	-633701.304	-1009.935702	-633743.7424
10	-1127.684742	-707632.3248	-1127.805412	-707708.0463
	-1127.724239	-707657.1095	-1127.805927	-707708.3694
	-1127.716259	-707652.102	-1127.806718	-707708.8658
11	-1206.255744	-756936.3357	-1206.389564	-757020.3089

	-1206.25018	-756932.8442	-1206.371764	-757009.1393
	-1206.302522	-756965.6893	-1206.37989	-757014.2384
12	-1206.249382	-756932.3434	-1206.396339	-757024.5603
	-1206.283063	-756953.4786	-1206.385654	-757017.8554
	-1206.295375	-756961.2045	-1206.399926	-757026.8112
13	-1107.839979	-695179.5574	-1107.903058	-695219.14
	-1107.84079	-695180.0663	-1107.901849	-695218.3814
	-1107.834609	-695176.1877	-1107.90557	-695220.7163
14	-1264.978948	-793785.6747	-1265.064275	-793839.2181
	-1264.967304	-793778.368	-1265.069452	-793842.4668
	-1264.959201	-793773.2833	-1265.066913	-793840.8735

M062x

Comp.	E. sin optimización [Ha]	E. sin optimización [Kcal/mol]	E. con optimización [Ha]	E. con optimización [Kcal/mol]
1	-1029.267244	-645874.459	-1029.357709	-645931.2266
	-1029.311498	-645902.2288	-1029.373974	-645941.4331
	-1029.270224	-645876.329	-1029.370679	-645939.3654
2	-1264.799338	-793672.9678	-1264.964093	-793776.353
	-1264.838225	-793697.3697	-1264.962619	-793775.4281
	-1264.811154	-793680.3824	-1264.96841	-793779.062

3	-1567.50836	-983625.6035	-1567.697276	-983744.15
	-1567.494864	-983617.1346	-1567.705632	-983749.3934
	-1567.572627	-983665.9316	-1567.691663	-983740.6278
4	-1147.051763	-719785.3047	-1147.162688	-719854.9112
	-1147.058823	-719789.735	-1147.172447	-719861.035
	-1147.088916	-719808.6186	-1147.173511	-719861.7027
5	-1225.599065	-769074.4437	-1225.694633	-769134.4135
	-1225.614493	-769084.1249	-1225.715577	-769147.556
	-1225.599865	-769074.9457	-1225.714563	-769146.9197
6	-1225.593386	-769070.8801	-1225.710075	-769144.1035
	-1225.592238	-769070.1597	-1225.720239	-769150.4815
	-1225.614029	-769083.8337	-1225.722392	-769151.8325
7	-1107.279208	-694827.6685	-1107.397347	-694901.8018
	-1107.351236	-694872.8668	-1107.407217	-694907.9953
	-1107.335733	-694863.1385	-1107.407663	-694908.2752
8	-1264.469608	-793466.0592	-1264.479558	-793472.303
	-1264.398936	-793421.7119	-1264.498743	-793484.3417
	-1264.40681	-793426.6529	-1264.497211	-793483.3804
9	-1009.388932	-633400.6393	-1009.477273	-633456.0741
	-1009.435643	-633429.9509	-1009.494212	-633466.7035
	-1009.450447	-633439.2405	-1009.504181	-633472.9591

10	-1127.198278	-707327.0642	-1127.303347	-707392.996
	-1127.229455	-707346.6281	-1127.288084	-707383.4183
	-1127.231021	-707347.6108	-1127.301152	-707391.6186
11	-1205.72083	-756600.6723	-1205.845171	-756678.6974
	-1205.717403	-756598.5218	-1205.827954	-756667.8936
	-1205.767082	-756629.6959	-1205.839332	-756675.0334
12	-1205.718167	-756599.0013	-1205.857761	-756686.5977
	-1205.7535	-756621.173	-1205.849209	-756681.2313
	-1205.763447	-756627.4149	-1205.85239	-756683.2274
13	-1107.345022	-694868.9674	-1107.406792	-694907.7286
	-1107.353064	-694874.0138	-1107.408851	-694909.0207
	-1107.348046	-694870.865	-1107.40476	-694906.4535
14	-1264.415651	-793432.2007	-1264.478777	-793471.8129
	-1264.40396	-793424.8645	-1264.492099	-793480.1726
	-1264.403336	-793424.473	-1264.488586	-793477.9681

ANEXO V

Ejemplo de archivo de entrada para los cálculos mecánico cuánticos del Aspartame para el nivel de teoría B3LYP.

%nprocshared=8

%mem=8GB

b3lyp/6-31++g(d,p) freq=noraman

Aspartame.pdb

0 1

N	12.69000000	2.54900000	20.45800000
C	11.69400000	1.98200000	19.69800000
O	11.78300000	1.79000000	18.48600000
H	12.32900000	2.99000000	21.30200000
C	13.89800000	3.13700000	19.85900000
C	14.13400000	2.67500000	18.40800000
C	14.58500000	1.23300000	18.32600000
C	13.91400000	0.31800000	17.50600000
C	14.34600000	-1.00600000	17.41900000
C	15.45500000	-1.42700000	18.15100000
C	16.13200000	-0.52600000	18.97000000

C	15.70100000	0.79900000	19.05600000
C	13.93600000	4.67700000	19.97200000
O	14.58400000	5.41300000	19.23600000
O	13.21800000	5.12000000	21.04800000
C	11.85300000	5.41800000	20.75600000
C	10.41600000	1.60900000	20.48600000
C	10.81000000	0.58400000	21.54800000
C	10.68800000	-0.81800000	21.00900000
O	9.61000000	-1.36000000	20.80900000
O	11.85800000	-1.44000000	20.76100000
H	12.44000000	-0.99800000	20.09500000
N	9.39200000	1.06700000	19.55100000
H	9.74000000	0.17300000	19.19200000
H	9.35100000	1.67100000	18.72700000
H	16.22600901	1.48854730	19.68352694
H	16.98234058	-0.84959534	19.53312250
H	15.78634580	-2.44218727	18.08388250
H	13.82587810	-1.69816911	16.79029090

H	13.06281229	0.63654598	16.94128065
H	11.82210851	0.75904333	21.84782696
H	10.02869930	2.48357223	20.96560566
H	14.72559656	2.77181297	20.43050885
H	14.88294319	3.29729516	17.96445424
H	13.22279053	2.78412902	17.85782897
H	10.16760923	0.69193452	22.39687233
H	11.76728102	5.73620525	19.73801293
H	11.25653985	4.54268211	20.90750540
H	11.51191044	6.19850756	21.40358463

ANEXO VI

Ejemplo de archivo de salida en los cálculos mecánico cuánticos del Aspartame para el nivel de teoría B3LYP antes de realizar la optimización.

Zero-point correction=	0.317730 (Hartree/Particle)
Thermal correction to Energy=	0.333435
Thermal correction to Enthalpy=	0.334379
Thermal correction to Gibbs Free Energy=	0.273556
Sum of electronic and zero-point Energies=	-1029.652135
Sum of electronic and thermal Energies=	-1029.636430
Sum of electronic and thermal Enthalpies=	-1029.635486
Sum of electronic and thermal Free Energies=	-1029.696309