

# **ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL**

## **FACULTAD DE CIENCIAS**

**ESTUDIOS DE INTERACCIONES ENTRE MOLÉCULAS  
ANTIOXIDANTES Y MOLÉCULAS RELACIONADAS CON  
RADICALES OXIDATIVOS MEDIANTE CÁLCULOS MECANO  
CUÁNTICOS Y SIMULACIONES DE DINÁMICA MOLECULAR.**

**PROYECTO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE  
FÍSICO.**

**JORGE ANDRÉS SORIA SALAZAR**  
**jsoria\_s@yahoo.com**

**Director: Oswaldo Aldás, PhD**  
**oswaldo.aldas@epn.edu.ec**

**Quito, marzo 2011**

# **DECLARACIÓN**

Yo Jorge Andrés Soria Salazar, declaro bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Escuela Politécnica Nacional puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normatividad institucional vigente.

---

**JORGE ANDRES SORIA SALAZAR**

# **CERTIFICACIÓN**

Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por Jorge Andrés Soria Salazar, bajo mi supervisión.

---

**Oswaldo Aldás, PhD**  
**DIRECTOR**

## **AGRADECIMIENTOS**

A mis padres y hermano por su apoyo incondicional. A toda mi familia, por sus constantes palabras de aliento y por la ayuda que me brindaron en los tiempos difíciles. En especial a mi tío Edgar, por todo lo que hizo por mí durante los años de estancia en la ciudad de Quito.

Al Doctor Marco Bayas por su colaboración con parte del material bibliográfico y por sus sugerencias al proyecto. Al Doctor Oswaldo Aldás por su invaluable aporte al desarrollo de mi proyecto de titulación; y porque sus iniciativas y colaboración han impulsado mi carrera como investigador desde el pregrado. A las excelentes personas que conocí en la Politécnica y que hoy tengo el privilegio de llamar amigos, por los buenos y malos momentos compartidos durante todo este tiempo.

# DEDICATORIA

*Este trabajo está dedicado a mis padres;  
por su ejemplo de amor infinito y de trabajo incansable.*

*Andrés.*

# Índice general

<b>Índice de figuras</b>	<b>IV</b>
<b>Índice de tablas</b>	<b>VI</b>
<b>Resumen</b>	<b>VIII</b>
<b>Abstract</b>	<b>IX</b>
<b>Introducción</b>	<b>1</b>
<b>1. Contexto del problema.</b>	<b>3</b>
1.1. La tensión oxidativa. . . . .	3
1.1.1. Radicales libres. . . . .	3
1.1.1.1. Especies Reactivas del Oxígeno. . . . .	4
1.1.2. Mecanismos de protección antioxidante. . . . .	5
1.2. Los flavonoides como antioxidantes. . . . .	6
1.2.1. Estructura de los flavonoides y ácidos fenólicos. . . . .	7
1.2.2. Relación estructura actividad antioxidante. . . . .	9
<b>2. Métodos computacionales.</b>	<b>11</b>
2.1. La teoría del orbital molecular. . . . .	11
2.1.1. La aproximación de Born-Oppenheimer. . . . .	13
2.1.2. La aproximación de Hartree-Fock. . . . .	15

2.1.3.	Determinantes de Slater. . . . .	16
2.1.3.1.	El principio variacional. . . . .	18
2.1.3.2.	Aproximación MO-LCAO (Molecular Orbital - Linear Combination of Atomic Orbitals). . . . .	21
2.1.3.3.	El método de campo autoconsistente. . . . .	22
2.1.4.	Conjuntos base. . . . .	26
2.1.4.1.	Orbitales Tipo Slater (STO). . . . .	28
2.1.4.2.	Conjuntos base triple zeta. . . . .	29
2.1.4.3.	Conjuntos base polarizados. . . . .	30
2.2.	Geometrías de equilibrio. . . . .	30
2.3.	Propiedades Electrostáticas. . . . .	33
2.3.1.	El Potencial Electrostático Molecular (MEP). . . . .	33
2.3.2.	Momentos dipolares. . . . .	35
2.4.	GAMESS. . . . .	35
2.5.	Dinámica Molecular. . . . .	36
2.5.1.	Campo de fuerzas. . . . .	37
2.5.1.1.	El campo de fuerzas GAFF (General Amber Force Field). . . . .	40
2.5.2.	Integración de las ecuaciones del movimiento. . . . .	41
2.5.3.	NAMD. . . . .	43
<b>3.</b>	<b>Propiedades estructurales y electrostáticas.</b>	<b>44</b>
3.1.	Geometrías de equilibrio. . . . .	44
3.1.1.	Análisis estructural comparativo. . . . .	53
3.1.1.1.	Quercetina. . . . .	53
3.1.1.2.	Fisetina. . . . .	53
3.1.1.3.	Genisteína. . . . .	54
3.1.1.4.	Floretina. . . . .	54

3.1.1.5. Ácidos Cafeico y Ferúlico. . . . .	56
3.1.1.6. Agua y Oxígeno Molecular. . . . .	63
3.2. Propiedades electrostáticas. . . . .	64
3.2.1. Análisis comparativo del Potencial Electrostático Molecular. . .	64
3.2.2. Cargas parciales. . . . .	72
3.2.3. Energía y momentos dipolares. . . . .	75
<b>4. Dinámica molecular.</b>	<b>77</b>
4.1. Interacciones Quercetina - $H_2O$ . . . . .	79
4.2. Interacciones Quercetina - $O_2$ . . . . .	87
<b>5. Conclusiones.</b>	<b>90</b>
<b>Anexos</b>	<b>95</b>
<b>Bibliografía</b>	<b>102</b>



# Índice de figuras

1.1. Orbitales moleculares para el estado base de algunas ROS. . . . .	4
1.2. Estructuras base de los flavonoides y ácidos fenólicos. . . . .	7
1.3. Estructuras y nomenclatura de los flavonoides y ácidos fenólicos estudiados . . . . .	8
1.4. Propiedades estructurales de un buen antioxidante . . . . .	10
2.1. Sistema de coordenadas para una molécula. . . . .	12
2.2. Ejemplo de una superficie de energía potencial. . . . .	14
2.3. Orbital tipo Slater aproximado por funciones gaussianas. . . . .	28
2.4. Suma de una función tipo s y una función tipo p. . . . .	30
2.5. Potencial electrostático molecular del benceno . . . . .	34
2.6. Representación del momento dipolar del ácido clorhídrico . . . . .	35
2.7. Ilustración de los términos internos y externos de la función de energía potencial . . . . .	38
2.8. Potencial de Lennard-Jones. . . . .	39
3.1. Geometrías de equilibrio de la Quercetina . . . . .	46
3.2. Geometría de equilibrio de la Fisetina . . . . .	47
3.3. Geometrías de equilibrio de la Genisteína . . . . .	48
3.4. Geometría de equilibrio de la Floretina . . . . .	49

3.5. Geometría de equilibrio del ácido Cafeico . . . . .	50
3.6. Geometría de equilibrio del ácido Ferúlico . . . . .	51
3.7. Geometrías de equilibrio del agua y del oxígeno molecular . . . . .	52
3.8. MEP de la Quercetina y Fisetina . . . . .	67
3.9. MEP de la Genisteína . . . . .	68
3.10. MEP de la Floretina . . . . .	69
3.11. MEP de los ácidos Cafeico y Ferúlico . . . . .	70
3.12. MEP del agua y oxígeno molecular . . . . .	71
3.13. Momentos dipolares de los flavonoides y ácidos fenólicos. . . . .	76
4.1. Tipos de átomos del campo de fuerza GAFF utilizados en la Quercetina	77
4.2. Cargas parciales de los oxígenos de los hidroxilos y número de enlaces hidrógeno formados en cada hidroxilo de la Quercetina. . . . .	84
4.3. Distancia y orientación de la interacción entre el H del 4'-OH de la Quercetina y una molécula de agua. . . . .	85
4.4. Distancia y orientación de interacción entre el H del 7-OH de la Quercetina y una molécula de agua. . . . .	85
4.5. Conformaciones de enlaces hidrógeno formados por las moléculas de agua entre los hidroxilos del anillo A de la Quercetina. . . . .	86
4.6. Interacción del oxígeno molecular con la Quercetina . . . . .	88
4.7. Interacciones entre el oxígeno molecular y las zonas de potencial negativo de la Quercetina generadas por los oxígenos de los grupos hidroxilo y del carbonilo . . . . .	89

# Índice de Tablas

2.1. Tipos de átomos definidos en GAFF . . . . .	41
3.1. Ángulos diedro que definen los isómeros de la Floretina . . . . .	55
3.2. Comparación de los parámetros estructurales de la Quercetina y Fisetina . . . . .	57
3.3. Comparación de los parámetros estructurales de Quercetina y Genisteína . . . . .	58
3.4. Comparación de los parámetros estructurales de la Fisetina y Genisteína . . . . .	59
3.5. Comparación de los parámetros estructurales de la Floretina y Quercetina. . . . .	60
3.6. Comparación de las longitudes de enlace de los ácidos Cafeico y Ferúlico. . . . .	61
3.7. Comparación de los ángulos de enlace y diedros de los ácidos Cafeico y Ferúlico . . . . .	62
3.8. Parámetros estructurales, energía y momento dipolar del agua. . . . .	63
3.9. Parámetros estructurales y energía del oxígeno molecular. . . . .	63
3.10. Comparación de las cargas parciales de los flavonoides. . . . .	73
3.11. Comparación de las cargas parciales de los ácidos fenólicos. . . . .	74
3.12. Cargas parciales de los Oxígenos en los hidroxilos de los flavonoides	74

3.13. Cargas parciales en los oxígenos en los hidroxilos de los ácidos fenólicos. . . . .	75
3.14. Energías y momentos dipolares de los flavonoides y ácidos fenólicos.	76
4.1. Tipos de átomos y cargas parciales de la Quercetina . . . . .	78
4.2. Comparación de la estructura de la Quercetina calculada con GAMESS y NAMD. . . . .	79
4.3. Simulaciones con las moléculas de agua alrededor del grupo 4'-OH .	81
4.4. Simulaciones con las moléculas de agua alrededor del grupo 3'-OH .	81
4.5. Simulaciones con las moléculas de agua alrededor del grupo 7-OH .	82
4.6. Simulaciones con las moléculas de agua alrededor del grupo 5-OH .	82
4.7. Simulaciones con las moléculas de agua alrededor del grupo 3-OH .	83
4.8. Resumen de los resultados de las simulaciones de dinámica molecular del sistema Quercetina + $3H_2O$ . . . . .	83
4.9. Número de interacciones entre el oxígeno molecular y las zonas de potencial negativo de la Quercetina generadas por los oxígenos de los grupos hidroxilo. . . . .	88

## RESUMEN

Los flavonoides y ciertos derivados del ácido cinámico son reconocidos por su alta actividad antioxidante; sin embargo, su relación estructura-actividad antioxidante aún no es muy clara. Para avanzar en el entendimiento de esta relación, mediante cálculos mecano cuánticos, se determinaron las estructuras de equilibrio de un grupo de estos antioxidantes y de moléculas relacionadas a los radicales libres del oxígeno. Estas moléculas fueron: Quercetina, Fisetina, Genisteína, Floretina, los ácidos Cafeico y Ferúlico, y las moléculas de agua y oxígeno. Los cálculos fueron realizados en el nivel de teoría RHF/6-311G utilizando el programa GAMESS. Se compararon los parámetros estructurales de estas moléculas. La Quercetina, Fisetina, y los ácidos Cafeico y Ferúlico presentaron estructuras de equilibrio planas. Por otro lado, la Genisteína y la Floretina presentaron desviaciones de la planaridad de  $47,2^\circ$  y  $90,9^\circ$  respectivamente. Posteriormente se llevaron a cabo cálculos del potencial electrostático molecular en el nivel de teoría RHF/6-311G\*\*. Las representaciones gráficas de los resultados de estos cálculos mostraron que, en las moléculas planas, la deslocalización electrónica se extiende a largo de toda su estructura; este hecho contribuye a que las moléculas sean buenos antioxidantes. Los gráficos de los potenciales electrostáticos permitieron identificar las regiones favorables para las interacciones entre los antioxidantes y los radicales oxidativos. Estas regiones se localizaron principalmente alrededor de los grupos hidroxilo de los anillos A y B. Se realizaron simulaciones de dinámica molecular con el fin de estudiar las distancias y orientaciones más comunes de las interacciones Quercetina- $O_2$  y Quercetina- $H_2O$ . Las simulaciones mostraron que las interacciones Quercetina- $O_2$  son débiles; a su vez, la Quercetina interacciona con el agua mediante enlaces hidrógeno, principalmente en 4'-OH y 7-OH. El criterio de reactividad basado en las magnitudes de las cargas parciales de los oxígenos de los grupos hidroxilo, sugirió que el sitio más reactivo está ubicado en la región del 4'-OH, lo que concuerda con los datos experimentales y otros estudios teóricos. En este grupo hidroxilo la distancia promedio del enlace hidrógeno Que-OH...O fue  $1,76\text{\AA}$ , formando un ángulo de  $111,6^\circ$ . Estos datos son importantes para en el futuro realizar estudios de los estados de transición de las reacciones entre los flavonoides y los radicales libres.

**Palabras clave:** antioxidantes, cálculos Hartree-Fock, flavonoides, GAMESS, geometrías de equilibrio, potencial electrostático molecular, Quercetina.

## ABSTRACT

Flavonoids and some cinnamic acid derivatives are well known for their high anti-oxidant activity; however, the structure-antioxidant activity relationship is far of being well understood. To get a better understanding of this relationship, by using quantum mechanical calculations, the equilibrium structures of a group of these antioxidants and molecules related to radical oxygen species were determined. These molecules were: quercetin, fisetin, genistein, phloretin, caffeic and ferulic acids, water, and molecular oxygen. The calculations were carried out using GAMESS at the RHF/6-311G level of theory. A comparative analysis of the structural parameters of these molecules was performed. Quercetin, fisetin, caffeic and ferulic acids showed planar equilibrium structures. On the other hand, genistein, and phloretin showed out-of-plane deviations of  $47,2^\circ$  and  $90,9^\circ$  respectively. Subsequently, molecular electrostatic potential calculations were carried out at the RHF/6-311G\*\* level of theory. The results of these calculations showed that, in planar molecules, the electron delocalization extends over the entire structure, and this is a feature of a good antioxidant. The electrostatic potential maps made possible to identify the regions favorable for the interactions between the antioxidants and oxidative radicals. These regions were located around the hydroxyl groups, mainly in A and B rings. Molecular dynamics simulations were conducted to study the distances and orientations commonly found in the interactions Quercetin- $O_2$  and Quercetin- $H_2O$ . These simulations showed that quercetin- $O_2$  interactions are weak. Quercetin interacts with water through hydrogen bonds formation, mainly in 4'-OH and 7-OH groups. The criterion for reactivity based on the magnitudes of the partial charges of the oxygens of the hydroxyl groups, suggested that the most reactive site is around the 4'-OH group, this is consistent with experimental data and other theoretical studies. In this hydroxyl group the average distance for the hydrogen bond Que-OH...O was  $1,76 \text{ \AA}$ , with an approaching angle of  $111,6^\circ$ . These data are important for future studies of transition states for the chemical reactions between flavonoids and free radicals.

**Keywords:** antioxidants, Hartree-Fock calculations, flavonoids, GAMESS, equilibrium geometries, molecular electrostatic potential, Quercetin.

## Introducción.

Dentro del organismo humano existe un equilibrio dinámico entre la formación de radicales libres oxidativos y de agentes de defensa antioxidante. El desequilibrio a favor de los radicales libres se conoce como tensión oxidativa, y es la causa de enfermedades degenerativas neuronales, cardíacas, o cáncer[5]. Los radicales libres provienen principalmente de las reacciones bioquímicas en las cuales interviene el oxígeno, y se conocen como especies reactivas del oxígeno (ROS)[1]. En los extremos de las reacciones de producción de las ROS están el agua y el oxígeno molecular, que en el presente trabajo llamamos moléculas relacionadas a los radicales oxidativos.

Las defensas antioxidantes desactivan a los radicales libres, evitan que proliferen, o reparan el daño que estos producen a las células. Ciertos polifenoles tienen propiedades antioxidantes, en este grupo se destacan los flavonoides y los derivados del ácido cinámico[14]. Estas moléculas están presentes en el reino vegetal, y parecen estar detrás de los beneficios para la salud de una dieta rica en frutas y vegetales[6, 7]. A pesar de que la alta capacidad antioxidante de los flavonoides ha sido verificada mediante técnicas experimentales, y que se han determinado ciertas propiedades estructurales que incrementan esta capacidad, la relación existente entre su estructura molecular y su capacidad antioxidante aún no es muy clara[14].

Nuestra búsqueda bibliográfica no encontró estudios que detallen los mecanismos de las reacciones entre los flavonoides y los radicales libres. Estudiar estos mecanismos es importante para avanzar en el entendimiento de la relación entre las propiedades estructurales de estas moléculas y su capacidad antioxidante. Para ello es conveniente conocer las geometrías más estables de estas moléculas, y realizar cálculos de sus propiedades electrostáticas. De esta manera se pueden determinar las regiones moleculares favorables para la interacción entre los flavonoides y los radicales libres. Con esta información se podrían iniciar estudios teóricos acerca de los mecanismos de las reacciones antes mencionadas.

Tanto las estructuras de equilibrio como las propiedades electrostáticas dependen de la densidad electrónica molecular. Es por ello que para iniciar el estudio de las interacciones entre estas moléculas se deben realizar cálculos de sus funciones de onda. Para esto, en el presente trabajo, se utiliza el método *ab initio*, junto con la teoría del orbital molecular, en la aproximación del campo autoconsistente de Hartree-Fock. Se revisa la teoría de estos métodos y se llevan a cabo los cálculos de las geometrías de equilibrio y los potenciales electrostáticos moleculares (MEPs)

de cuatro flavonoides, dos derivados del ácido cinámico y de las moléculas de agua y oxígeno. Los 6 antioxidantes fueron seleccionados de forma que, las similitudes y diferencias entre sus estructuras y entre sus potenciales electrostáticos, nos ayuden a comprender la relación estructura-actividad antioxidante. Los cálculos mecano cuánticos se ejecutaron utilizando el programa GAMESS.

Una vez que se determinan las propiedades estructurales y electrostáticas se realizan simulaciones de dinámica molecular entre la Quercetina, conocida por su alto poder antioxidante, y las moléculas de agua y oxígeno. Estas simulaciones tienen el fin de establecer las distancias y orientaciones de interacción más comunes entre los elementos de estos sistemas. Las simulaciones se realizan utilizando el programa NAMD junto con el campo de fuerzas GAFF, orientado al estudio de moléculas con propiedades farmacológicas. El presente trabajo reporta las distancias y los ángulos promedio de la interacción entre la Quercetina y el agua; que sirven para en el futuro realizar estudios de los estados de transición de la reacción química entre un flavonoide y un radical libre derivado del oxígeno.



# Capítulo 1

## Contexto del problema.

### 1.1. La tensión oxidativa.

#### 1.1.1. Radicales libres.

Los radicales libres son moléculas muy reactivas, de bajo peso molecular, que tienen uno o más electrones con spin desapareado[1]. En la naturaleza los átomos y las moléculas son más estables si sus orbitales atómicos (AO) o moleculares (MO) tienen sus electrones con spines apareados. Los radicales libres son químicamente muy reactivos porque no están en un estado de spin estable. Estas moléculas se estabilizan donando o aceptando un electrón. Este proceso inicia una reacción en cadena de formación de radicales[2].



En la Ec. (1.1) cuando un radical  $R\cdot$  reacciona con una molécula  $X$  en general el producto de la reacción también es un radical inestable  $X\cdot$ . Este nuevo radical inestable reaccionará con otra molécula generando una reacción en cadena, la misma que puede interrumpirse cuando reaccionan los radicales entre si, de manera que se eliminan los electrones con spines desapareados Ec. (1.2). Alternativamente, existen moléculas que al reaccionar con los radicales libres producen radicales estables. Estos tipos especiales de moléculas son conocidos como trampas de spin (ST) Ec. (1.3)[3].



### 1.1.1.1. Especies Reactivas del Oxígeno.

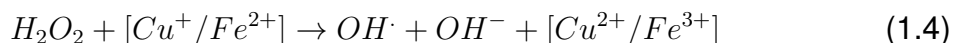
Algunos organismos vivos han desarrollado sistemas para aprovechar la energía liberada en ciertas reacciones bioquímicas en las cuales interviene el Oxígeno. Estas reacciones son catalizadas por los iones metálicos  $Fe^{2+}$  o  $Cu^+$  y generan radicales libres derivados del Oxígeno, también llamados Especies Reactivas del Oxígeno (ROS)[2]. Ejemplos de estas moléculas son el radical Superóxido  $O_2^{\cdot-}$ , el peróxido de Hidrógeno  $H_2O_2$  o el radical Hidroxilo  $OH\cdot$ . Estos radicales son utilizados en procesos fisiológicos normales tales como la comunicación celular, o como agentes de defensa contra infecciones[1]. A pesar de que los radicales libres son necesarios, su interacción permanente con los diferentes tejidos produce daño oxidativo.

$\pi^*2p$	↑	↑	↑↓	↑	↑↓	↑↓	↑↓	
$\pi2p$	↑↓	↑↓	↑↓	↑↓	↑↓	↑↓	↑↓	↑↓
$\sigma2p$		↑↓		↑↓		↑↓		↑↓
$\sigma^*2s$		↑↓		↑↓		↑↓		↑↓
$\sigma2s$		↑↓		↑↓		↑↓		↑↓
$\sigma^*1s$		↑↓		↑↓		↑↓		↑↓
$\sigma1s$		↑↓		↑↓		↑↓		↑↓
	$O_2$		$O_2^{\cdot-}$		$H_2O_2$		$^1\Delta_g O_2$	

**Figura 1.1.** Orbitales moleculares para el estado base del oxígeno molecular (triplete)  $O_2$ , superóxido  $O_2^{\cdot-}$ , peróxido de hidrógeno  $H_2O_2$  y oxígeno molecular en un estado excitado (singlete)  $^1\Delta_g O_2$ .

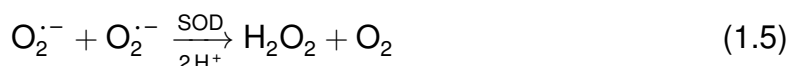
La configuración electrónica del estado base del oxígeno molecular  $O_2$  tiene un estado de spin triplete. Figura 1.1. Las moléculas con un estado de spin triplete no reaccionan con las moléculas con un estado de spin singlete. La mayoría de las biomoléculas tiene un estado de spin singlete, por esta razón el oxígeno molecular en su estado base no produce el daño oxidativo[2]. Los radicales libres derivados del Oxígeno tienen un estado de spin singlete y son los agentes que atacan a las biomoléculas. A pesar de que el peróxido de Hidrógeno no es un radical, es perjudicial porque participa en la formación del radical Hidroxilo. La Ec. (1.4) describe la

formación de la especie reactiva del oxígeno más dañina para las biomoléculas, el radical hidroxilo  $\text{OH}^\cdot$  [1].



### 1.1.2. Mecanismos de protección antioxidante.

Un antioxidante es cualquier sustancia que, cuando está presente en bajas concentraciones comparadas con aquellas de un sustrato oxidable, retrasa o previene significativamente la oxidación de ese sustrato[4]. Para controlar el daño oxidativo la selección natural ha desarrollado varios mecanismos de defensa antioxidante que trabajan eliminando a los radicales libres, desactivándolos, evitando que se produzcan y propaguen, o reparando el daño provocado. Los mecanismos de defensa pueden ser enzimáticos o no enzimáticos. Entre las defensas enzimáticas tenemos a la proteína Superóxido Dismutasa (SOD) que elimina los superóxidos produciendo peróxido de Hidrógeno y Oxígeno molecular Ec. (1.5). A su vez la Catalasa (CAT) toma el peróxido de Hidrógeno y produce agua y Oxígeno molecular Ec(1.6).



En el grupo de los antioxidantes no enzimáticos podemos citar a las vitaminas E, C, A y a los compuestos polifenólicos tales como los flavonoides y los derivados del ácido cinámico[3]. Estos antioxidantes no son producidos por el organismo y son ingeridos en los alimentos. Los antioxidantes no enzimáticos son menos específicos que los enzimáticos, reaccionan con los radicales derivados del Nitrógeno, Cloro, Carbono y con las especies reactivas del Oxígeno. Pueden trabajar de manera conjunta, los flavonoides a más de su capacidad antioxidante pueden; por ejemplo, incrementar la absorción de la Vitamina C. A su vez, la Vitamina C recicla las especies radicales formadas en las reacciones de las vitaminas A y E con los radicales libres.

El ataque de los radicales libres a las biomoléculas está relacionado con el proceso de envejecimiento. El daño oxidativo produce enfermedades degenerativas neuro-

nales, cardíacas o cáncer[1, 5]. Las especies reactivas del Oxígeno son mutagénicas ya que modifican químicamente el ADN lo que podría originar cáncer. Provocan la peroxidación de los lípidos, proceso que está relacionado con la arteriosclerosis y al desarrollo de enfermedades cardiovasculares. Atacan a las proteínas produciendo enzimas menos activas o desnaturizándolas, dejándolas incapaces de cumplir con sus funciones biológicas.

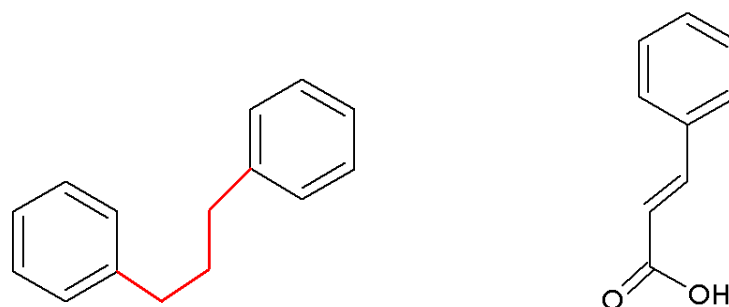
Idealmente en el interior del organismo humano debería existir un equilibrio dinámico entre la producción de radicales libres y de moléculas antioxidantes. La perturbación de este equilibrio a favor de los radicales libres se conoce como tensión oxidativa[5]. La utilización de las especies reactivas del Oxígeno en procesos fisiológicos evidencia que siempre existe este estado de desequilibrio. La cantidad de radicales libres es la que determina el grado de tensión oxidativa al que está expuesto el organismo. Un alto grado de tensión oxidativa desembocará en las enfermedades asociadas al daño oxidativo mencionadas anteriormente.

## 1.2. Los flavonoides como antioxidantes.

Los flavonoides son moléculas orgánicas presentes en las plantas, y debido a sus amplias propiedades farmacológicas actualmente son el objeto de un gran número de investigaciones a nivel mundial[6, 7, 8]. Los flavonoides tienen actividades hepatoprotectoras, antiinflamatorias, antialérgicas, antivirales, antimutagénicas y antioxidantes. Se atribuyen a estas moléculas los beneficios para la salud de una dieta rica en frutas y vegetales. A pesar de esto las ventajas de los flavonoides todavía no ha sido explotadas comercialmente[6].

Los flavonoides son los compuestos polifenólicos más importantes que presentan propiedades antioxidantes. Se han catalogado alrededor de 4000 flavonoides diferentes[7]. Encontramos flavonoides en la gran mayoría de los elementos que componen la dieta humana regular. En los Estados Unidos y en el Reino Unido se consume aproximadamente 1gr. diario de flavonoides[7]. Esta cantidad supera al consumo de otros antioxidantes como las vitaminas A y E. Entre las fuentes más importantes de flavonoides tenemos a la cebolla, lechuga, brócoli, la corteza de las manzanas, aceitunas, trigo, maíz, arroz; o en bebidas tales como el té verde, el café o el vino tinto.

### 1.2.1. Estructura de los flavonoides y ácidos fenólicos.



(a) Flavonoide C6-C3-C6

(b) Ácido cinámico C6-C3

**Figura 1.2.** Estructuras base de los flavonoides y ácidos fenólicos.

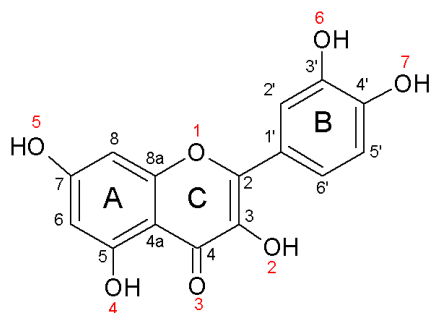
Los flavonoides son moléculas polifenólicas producto de la fotosíntesis de las plantas[6]. Los fenoles son compuestos que tienen uno o más grupos hidroxilo OH enlazados a un anillo aromático. Los polifenoles tienen más de un hidroxilo unidos a uno o más anillos de benceno. Los flavonoides son polifenoles con una estructura base de la forma C6-C3-C6, dos anillos de benceno unidos por tres carbonos[9]. Figura 1.2 (a). Los ácidos fenólicos están caracterizados por la presencia de un grupo carboxilo y tienen una estructura base de la forma C6-C3 Figura 1.2 (b). Los ácidos cinámicos (ácidos fenólicos) están presentes en las plantas o se producen en el sistema digestivo a partir de los flavonoides.

El anillo central C define la clasificación de los flavonoides[9, 10] Figura 1.3. En las flavonas, una familia de flavonoides, los anillos A y C constituyen el benzopirano, al cual está enlazado el anillo B en la posición 2. En el anillo central C existe un enlace doble C=C. Figura 1.3 (a) y (b). En las isoflavonas el anillo B está enlazado en la posición 3 del benzopirano. Figura 1.3 (c). Las dihidrochalconas no tienen anillo central, Figura 1.3. (d). La Figura 1.3 contiene únicamente a las moléculas estudiadas en el presente trabajo. Con respecto a los ácidos cinámicos, se muestran el ácido Cafeico y el ácido Ferúlico, Figuras 1.3 (e) y (f) respectivamente.

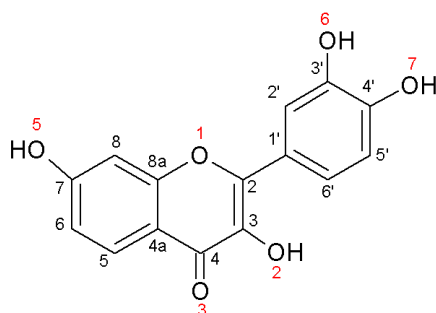
En la Figura 1.3 las flavonas Quercetina y Fisetina difieren por el grado de hidroxilación; es decir, por el número de grupos hidroxilo presentes en cada molécula. La isoflavona Genisteína se diferencia de las flavonas por la posición del anillo B y por el grado de hidroxilación del mismo. La dihidrochalcona Floretina presenta una estructura sin el anillo central, y un mayor grado de hidroxilación en el anillo A con relación a las tres moléculas anteriores. Los derivados del ácido cinámico, Cafeico y Ferúlico difieren por la presencia del grupo metoxi en el C3 del anillo de benceno.

Se han elegido estas moléculas de forma que el estudio de sus similitudes y diferencias aporten al entendimiento de la relación estructura - actividad antioxidante.

### FLAVONAS

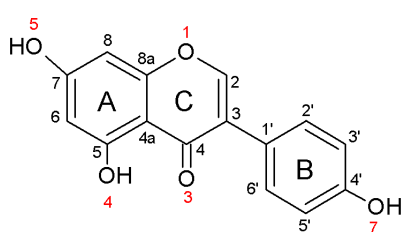


(a) Quercetina 3,5,7,3',4'-penta OH



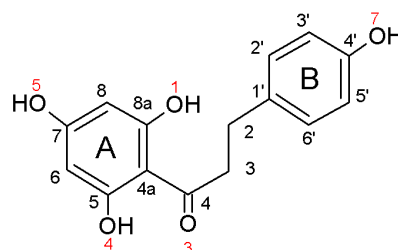
(b) Fisetina 3,7,3',4'-tetra OH

### ISO-FLAVONA



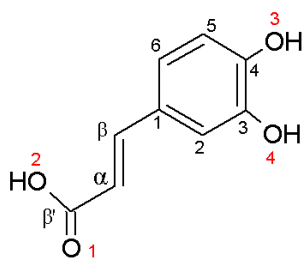
(c) Genisteína 5,7,4'-tri OH

### DIHIDROCHALCONA

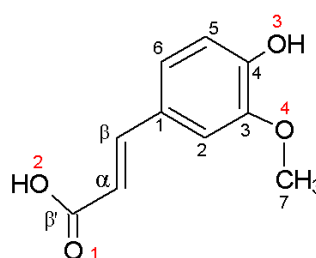


(d) Floretina 2',4',6',4'-tetra OH

### ÁCIDOS CINÁMICOS



(e) Ácido Cafeico 3,4-di OH

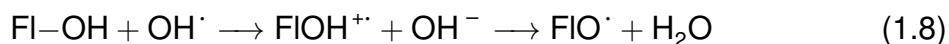
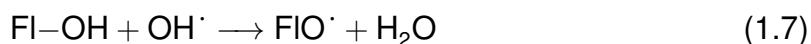


(f) Ácido Ferúlico 4-OH, 3-OMe

**Figura 1.3.** Estructuras y nomenclatura de los flavonoides y ácidos fenólicos estudiados.

### 1.2.2. Relación estructura actividad antioxidante.

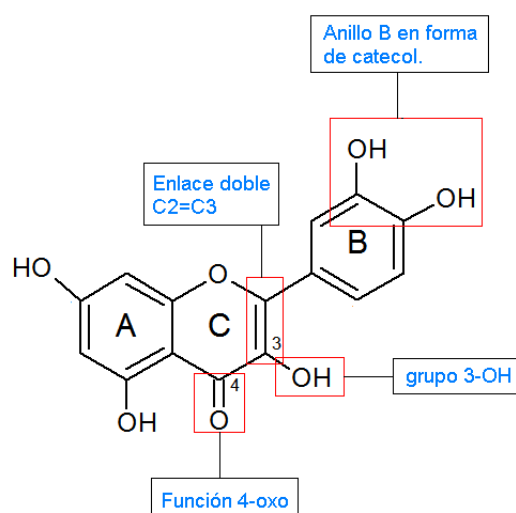
Los flavonoides actúan como antioxidantes funcionando como trampas de spin, Ec. (1.3), o como quelantes de los iones metálicos que catalizan las reacciones de formación de los radicales libres derivados del Oxígeno. Un quelante es un químico que forma moléculas complejas con ciertos iones metálicos; el quelante atrapa al ion e impide que este participe en otras reacciones químicas. El presente trabajo se concentra en el papel de los flavonoides como trampas de spin, también conocido como *free radical scavengers*. A manera de ejemplo, las ecuaciones químicas (1.7) y (1.8) ilustran los dos modos en los que los flavonoides reaccionan con el radical hidroxilo. En la ecuación (1.7) se transfiere un H de un hidroxilo del flavonoide hacia el radical. En la ecuación (1.8) en primera instancia se transfiere un electrón desde el flavonoide al radical, lo que al final produce la transferencia del H como en el caso anterior.



La alta actividad antioxidante de los flavonoides ha sido medida con técnicas experimentales[11, 12, 13, 14]. Estas técnicas consisten en agregar flavonoides a un sustrato oxidable y estudiar como estos evitan o retrasan la oxidación de ese sustrato. Cada estudio experimental usa un sustrato diferente, oxidado por radicales diferentes, esto es un inconveniente al tratar de elaborar una escala antioxidante única. Sin embargo, usando esta metodología con flavonoides y ácidos cinámicos con diferentes propiedades estructurales (grado de hidroxilación, saturación) se ha logrado identificar las características estructurales que incrementan su capacidad antioxidante.

Los flavonoides tienen una alta capacidad antioxidante cuando presentan las siguientes propiedades estructurales[14]Figura 1.4:

1. El anillo B con dos hidroxilos en la posición orto (catecol).
2. Un enlace doble C2=C3 y la función 4-oxo (anillo C).
3. La presencia del 3-OH (anillo C).



**Figura 1.4.** Propiedades estructurales que incrementan la capacidad antioxidante de un flavonoide. La Quercetina reúne todas estas propiedades.

Una de las características de un buen antioxidante es que el radical formado a partir de este debe ser estable[2]. Partiendo de esta condición se han dado posibles explicaciones para el papel que juegan estas propiedades estructurales en la estabilidad del radical. La idea básica de estas explicaciones es que el electrón desapareado debe estar lo más deslocalizado posible[14, 15]. La deslocalización evita que el radical flavonoide tenga una región activa bien definida que pueda iniciar una nueva reacción en cadena. De la misma forma, en los derivados del ácido cinámico la deslocalización desempeña el papel fundamental en la estabilización del radical formado[14]. Sin embargo, estas hipótesis se han planteado asumiendo que la reacción flavonoide radical ha concluido, y según nuestra bibliografía no se han encontrado estudios acerca de los mecanismos de estas reacciones.



# Capítulo 2

## Métodos computacionales.

La interacción entre un antioxidante y un radical dependerá de sus estructuras moleculares y básicamente de sus propiedades electrostáticas. Las estructuras moleculares dan información acerca de la accesibilidad espacial de los sitios reactivos. Por su parte, las propiedades electrostáticas definen las regiones eléctricamente atractivas o repulsivas entre las moléculas interactuantes. Tanto las estructuras moleculares como las propiedades electrostáticas están determinadas por la densidad electrónica molecular. De manera que para iniciar un estudio acerca de las interacciones, entre los flavonoides y las moléculas asociadas a los radicales derivados del oxígeno, es conveniente conocer la estructura electrónica de estas moléculas.

### 2.1. La teoría del orbital molecular.

El postulado fundamental de la mecánica cuántica establece que existe una función de onda  $\psi$  para cualquier sistema físico[16]. La acción de los operadores apropiados sobre  $\psi$  determina observables de ese sistema. En particular, el operador que determina la energía del sistema se denomina operador Hamiltoniano  $H$  y la Ec. (2.1) es la ecuación de Schrödinger. En la Ec. (2.1)  $\psi$  es una función propia y  $E$  es un valor propio del operador Hamiltoniano.

$$H\psi = E\psi \tag{2.1}$$

Un orbital es una función de onda para un electrón[17]. Un orbital atómico es una función de onda que es solución de la ecuación de Schrödinger monoeléctrica,



culas multielectrónicos. Sin embargo, en estos sistemas se pueden calcular aproximaciones para su función de onda mediante la utilización de distintos métodos. Los métodos semi-empíricos usan un Hamiltoniano simplificado, e introducen parámetros ajustados de tal forma que sus resultados concuerden con los datos experimentales [16]. El método *ab initio*, o de primeros principios, se refiere a cálculos en donde no se utilizan valores experimentales excepto las constantes físicas fundamentales[18]. Es decir, las propiedades moleculares calculadas con el método *ab initio* son esencialmente predicciones teóricas. El método *ab initio* es más costoso en recursos computacionales comparado con los métodos semi-empíricos, pero proporciona resultados más precisos.

Encontrar soluciones aproximadas para la ecuación de Schrödinger para sistemas multielectrónicos sigue siendo un problema complejo. Debido a esto dentro de la teoría del orbital molecular, tanto en los métodos *ab initio* como en los semi-empíricos, se han propuesto simplificaciones para facilitar los cálculos. Estas simplificaciones incluyen la aproximación de Born-Oppenheimer, la aproximación de Hartree-Fock y la aproximación MO-LCAO (Molecular Orbital - Linear Combination of Atomic Orbitals). El presente trabajo ha sido realizado utilizando el método *ab initio* con las aproximaciones antes mencionadas.

### 2.1.1. La aproximación de Born-Oppenheimer.

La aproximación de Born-Oppenheimer posibilita el desacoplamiento de los movimientos electrónico y nuclear[17]. Se fundamenta en la gran diferencia que existe entre las masas de los núcleos y de los electrones. Debido a que los núcleos son mucho más pesados que los electrones, con relación a estos últimos los núcleos se mueven más lentamente. De esta forma, en una buena aproximación se puede considerar que los electrones en una molécula se mueven en el campo eléctrico generado por los núcleos en posiciones fijas. Esto implica que en el Hamiltoniano (2.2) la energía cinética de los núcleos es cero y el término de repulsión entre los núcleos puede ser considerado constante.

$$H = - \sum_{i=1}^N \frac{1}{2} \nabla_i^2 - \sum_{i=1}^N \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum_{i=1}^N \sum_{j>1}^N \frac{1}{r_{ij}} + \underbrace{\sum_{A=1}^M \sum_{B>A}^M \frac{Z_A Z_B}{R_{AB}}}_{cte} \quad (2.3)$$

Una constante añadida a un operador solo se suma a los valores propios de este

operador y no afecta a sus vectores propios. Los términos restantes en el Hamiltoniano (2.3) constituyen el Hamiltoniano electrónico.

$$H_{elec} = - \sum_{i=1}^N \frac{1}{2} \nabla_i^2 - \sum_{i=1}^N \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum_{i=1}^N \sum_{j>1}^N \frac{1}{r_{ij}} \quad (2.4)$$

La función de onda electrónica  $\Phi_{elec}$  es solución de la ecuación de Schrödinger:

$$H_{elec} \Phi_{elec} = E_{elec} \Phi_{elec} \quad (2.5)$$

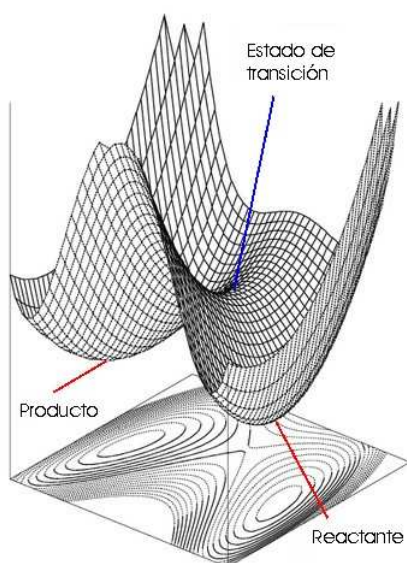
La energía total del sistema se obtiene sumando la constante de la repulsión nuclear a la energía electrónica.

$$E_{tot} = E_{elec} + cte \quad (2.6)$$

$$E_{tot} = E_{elec} + \sum_{A=1}^M \sum_{B>A}^M \frac{Z_A Z_B}{R_{AB}} \quad (2.7)$$

Puesto que  $E_{elec}$  depende paramétricamente de las coordenadas nucleares tenemos que:

$$E_{tot} = E_{tot}(\vec{R}_A) \quad (2.8)$$



**Figura 2.2.** Superficie de energía potencial, los mínimos corresponden a estructuras estables y los puntos silla a los estados de transición.

La función (2.8) constituye una hipersuperficie de energía potencial. Esta hipersuperficie se obtiene mediante la resolución de la ecuación de Schrödinger electrónica (2.5). Los puntos críticos de la hipersuperficie determinan las geometrías de equilibrio y los estados de transición de los sistemas moleculares. La Figura 2.2 muestra un caso simplificado de una superficie de energía potencial que depende únicamente de dos variables.

### 2.1.2. La aproximación de Hartree-Fock.

Para definir completamente a un electrón se necesita conocer su distribución espacial y su spin. Un orbital molecular  $\psi(\vec{r})$  es una función de las coordenadas  $\vec{r}$  de un electrón.  $|\psi(\vec{r})|^2$  es interpretado como la distribución de probabilidad del electrón en el espacio. Por otro lado, el spin de un electrón puede ser descrito mediante las dos funciones ortonormales  $\alpha(\omega)$  y  $\beta(\omega)$ , que corresponden a los estados de spin up ( $\uparrow$ ) y down ( $\downarrow$ ) respectivamente. La función de onda completa para un electrón es el producto de un orbital molecular y una función de spin, este producto se denomina orbital de spin  $\chi$  [17].

$$\chi = \begin{cases} \psi(\vec{r})\alpha(\omega) \\ \text{ó} \\ \psi(\vec{r})\beta(\omega) \end{cases} \quad (2.9)$$

El producto  $\psi(\vec{r})\alpha(\omega)$  define a un electrón en el orbital molecular  $\psi(\vec{r})$  con spin up. A su vez, el producto  $\psi(\vec{r})\beta(\omega)$  define a un electrón en el mismo orbital molecular  $\psi(\vec{r})$  pero con spin down. Hay dos clases de orbitales de spin, los orbitales de spin restringidos y los orbitales de spin no restringidos. Los orbitales de spin restringidos están sujetos a la condición de tener el mismo orbital molecular para las funciones de spin  $\alpha$  y  $\beta$ . Los orbitales de spin no restringidos tienen diferentes orbitales moleculares para las funciones de spin  $\alpha$  y  $\beta$ . La teoría desarrollada en este capítulo trata con orbitales de spin restringidos, y hablaremos de los cálculos de Hartree-Fock Restringidos (RHF).

### 2.1.3. Determinantes de Slater.

Una vez que se ha establecido la forma de definir apropiadamente un electrón consideremos un Hamiltoniano molecular de la forma:

$$H = \sum_{i=1}^N h(i) \quad (2.10)$$

Donde  $N$  es el número de electrones en la molécula,  $h(i)$  es un Hamiltoniano mono-electrónico que describe la energía cinética y la energía potencial del electrón  $i$ , e incluye los efectos de la repulsión del resto de electrones de una manera promedio. El operador  $h(i)$  puede tener como funciones propias al conjunto de orbitales de spin  $\{\chi_j\}$ , de forma que:

$$h(i)\chi_j(x_i) = \varepsilon_j\chi_j(x_i) \quad (2.11)$$

donde  $x_i$  representa el conjunto de coordenadas espaciales y el spin del electrón  $i$ .

Las funciones propias del Hamiltoniano  $H$  definido en (2.10),  $\Psi^{HP}$ , serán el producto de los orbitales de spin de cada electrón. De esta manera, la ecuación de Schrödinger:

$$H\Psi^{HP} = E\Psi^{HP} \quad (2.12)$$

tiene como función propia al producto de Hartree

$$\Psi^{HP} = \chi_1(x_1)\chi_2(x_2) \dots \chi_N(x_N) \quad (2.13)$$

El producto de Hartree  $\Psi^{HP}$  es una función de onda multielectrónica, donde el electrón 1 es descrito por el orbital de spin  $\chi_1$ , el electrón 2 es descrito por el orbital de spin  $\chi_2$ , así hasta el electrón  $N$  que es descrito por el orbital de spin  $\chi_N$ . El producto de Hartree tiene el valor propio  $E$ , igual a la suma de las energías de los orbitales de spin que aparecen en  $\Psi^{HP}$

$$E = \varepsilon_1 + \varepsilon_2 + \dots + \varepsilon_N \quad (2.14)$$

Un producto de Hartree es una función de onda no correlacionada, ya que la probabilidad de encontrar a un electrón en un punto dado del espacio es independiente de las posiciones de los otros electrones[17]. Los productos de Hartree no toman en cuenta la indistinguibilidad de los electrones. Este problema se soluciona reescribiendo las funciones de onda como un determinante

$$\Psi = (N!)^{-1/2} \begin{vmatrix} \chi_1(x_1) & \chi_2(x_1) & \dots & \chi_N(x_1) \\ \chi_1(x_2) & \chi_2(x_2) & \dots & \chi_N(x_2) \\ \vdots & \vdots & & \vdots \\ \chi_1(x_N) & \chi_2(x_N) & \dots & \chi_N(x_N) \end{vmatrix} \quad (2.15)$$

El determinante (2.15) es conocido como determinante de Slater, el factor  $(N!)^{-1/2}$  es de normalización. El determinante de Slater tiene  $N$  electrones ocupando  $N$  orbitales de spin  $(\chi_1, \chi_2, \dots, \chi_N)$ . Tener dos electrones en un mismo orbital de spin implica que dos columnas del determinante son iguales lo que lo anularía. De esta manera las funciones de onda representadas por un determinante de Slater satisfacen el principio de exclusión de Pauli. Un determinante de Slater es la función de onda antisimétrica más simple utilizada para describir el estado base de un sistema compuesto por  $N$  electrones. Se escribirá un determinante de Slater, para una función de onda molecular  $\Psi_o$ , forma simplificada mediante:

$$|\Psi_o\rangle = |\chi_i \chi_j \dots \chi_k\rangle \quad (2.16)$$

La energía del estado base del sistema molecular será:

$$E_o = \langle \Psi_o | H | \Psi_o \rangle \quad (2.17)$$

Utilizando el Hamiltoniano (2.10) y la función de onda (2.16) la expansión de (2.17) resulta en:

$$E_o = \sum_{i=1}^N [i|h|i] + \frac{1}{2} \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N [ii|jj] - [ij|ji] \quad (2.18)$$

Siendo  $h(i)$  un Hamiltoniano monoeléctrico que contiene al operador de energía cinética del electrón  $i$  y a los operadores de energía potencial para las atracciones entre el electrón  $i$  y los  $M$  núcleos

$$h(i) = -\frac{1}{2}\nabla_i^2 - \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{r_{iA}} \quad (2.19)$$

Los símbolos entre corchetes en (2.18) representan integrales monoeléctricas y bieléctricas. En las integrales monoeléctricas de la forma (2.20), la integración es sobre las coordenadas espaciales y de spin de un solo electrón. Las variables de integración son mudas, por conveniencia se escogen las del electrón 1.

$$[i|h|i] = \int \chi_i^*(x_1)h(r_1)\chi_i(x_1)dx_1 \quad (2.20)$$

Las integrales de la forma (2.21) son integrales de Coulomb; representan la energía potencial de interacción entre el electrón 1 y la densidad electrónica correspondiente al electrón 2. Las integrales de la forma (2.22) son integrales de intercambio, se originan al antisimetrizar las funciones de onda. En las integrales de Coulomb y de intercambio la integración es sobre las coordenadas espaciales y de spin de dos electrones, por eso se denominan integrales bieléctricas. Las variables de integración son mudas, por conveniencia siempre se escogen las de los electrones 1 y 2. Las integrales (2.21) y (2.22) son los valores esperados de los operadores  $J$  y  $K$  que se explican más adelante.

$$[ii|jj] = \int \chi_i^*(x_1)\chi_i(x_1)r_{12}^{-1}\chi_j^*(x_2)\chi_j(x_2)dx_1dx_2 \quad (2.21)$$

$$[ij|ji] = \int \chi_i^*(x_1)\chi_j(x_1)r_{12}^{-1}\chi_j^*(x_2)\chi_i(x_2)dx_1dx_2 \quad (2.22)$$

### 2.1.3.1. El principio variacional.

Dado un determinante de Slater  $|\Psi_o\rangle$  la energía  $E_o$  es un funcional de los orbitales de spin. Al minimizar  $E_o$  con respecto a la variación de los orbitales de spin se obtiene la ecuación de Hartree-Fock. Los orbitales de spin varían sistemáticamente con la restricción de que permanezcan ortonormales, es decir:

$$\int \chi_i^*(1)\chi_j(1)dx_1 = [i|j] = \delta_{ij} \quad (2.23)$$



donde  $\delta_{ij}$  es la delta de Kronecker  $\delta_{ij} = \begin{cases} 1 & \text{si } i = j \\ 0 & \text{si } i \neq j \end{cases}$

La condición de ortonormalidad (2.23) puede escribirse como:

$$[i|j] - \delta_{ij} = 0 \quad (2.24)$$

Sea el funcional

$$\mathcal{L}[\{\chi_i\}] = E_o[\{\chi_i\}] - \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \varepsilon_{ji} ([i|j] - \delta_{ij}) \quad (2.25)$$

donde  $\varepsilon_{ji}$  son multiplicadores de Lagrange. De esta manera la minimización de  $E_o$  sujeta a la restricción (2.23) implica minimizar el funcional  $\mathcal{L}$

$$\delta \mathcal{L}[\{\chi_i\}] = 0 \quad (2.26)$$

$$\delta \mathcal{L}[\{\chi_i\}] = \delta E_o[\{\chi_i\}] - \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \varepsilon_{ji} \delta [i|j] = 0 \quad (2.27)$$

Donde  $E_o$  está dado por la Ec. (2.18). El desarrollo de la expresión (2.27) es extenso, se lo explica en la bibliografía[17], y conduce eventualmente a:

$$\left[ h(1) + \sum_{j \neq i}^N J_j(1) - \sum_{j \neq i}^N K_j(1) \right] \chi_i(1) = \varepsilon_i \chi_i(1) \quad i = 1, 2, \dots, N \quad (2.28)$$

En donde se definen los operadores de Coulomb  $J_j$  y de intercambio  $K_j$  por su efecto en el orbital de spin  $\chi_i(1)$  como:

$$J_j(1)\chi_i(1) = \left[ \int \chi_j^*(2) r_{12}^{-1} \chi_j(2) dx_2 \right] \chi_i(1) \quad (2.29)$$

$$K_j(1)\chi_i(1) = \left[ \int \chi_j^*(2) r_{12}^{-1} \chi_i(2) dx_2 \right] \chi_j(1) \quad (2.30)$$

Para un electrón en  $\chi_i$  los valores esperados de los potenciales de Coulomb y de Intercambio corresponden a las integrales (2.21) y (2.22).

De las definiciones (2.29) y (2.30) se tiene que:

$$[J_i(1) - K_i(1)]\chi_i(1) = 0 \quad (2.31)$$

de esta forma es posible escribir el termino en el corchete de (2.28) como:

$$f(1) = h(1) + \sum_j (J_j(1) - K_j(1)) \quad (2.32)$$

que es el operador de Fock, si definimos el potencial monoelectrónico efectivo  $v^{HF}$  como:

$$v^{HF} = \sum_j (J_j(1) - K_j(1)) \quad (2.33)$$

el operador de Fock es:

$$f(1) = h(1) + v^{HF} \quad (2.34)$$

y la ecuación de Hartree-Fock sería:

$$f|\chi_i\rangle = \varepsilon_i|\chi_i\rangle \quad (2.35)$$

Consideremos el orbital de spin restringido:

$$\chi_i(x) = \begin{cases} \psi_i(\vec{r})\alpha(\omega) \\ \psi_i(\vec{r})\beta(\omega) \end{cases} \quad (2.36)$$

Para fines de cálculo es útil trabajar solamente con funciones espaciales. El proceso para pasar de orbitales de spin a orbitales espaciales, consiste en desarrollar en primera instancia las integrales con respecto a las coordenadas de spin. La ortogonalidad de las funciones  $\alpha(\omega)$  y  $\beta(\omega)$  hará que ciertos términos de las integrales mono y bi electrónicas se anulen. Una vez que se ha eliminado el spin, el problema consiste en resolver la ecuación integro diferencial de Hartree-Fock (2.37).

$$f(\vec{r}_1)\psi_i(\vec{r}_1) = \varepsilon_i\psi_i(\vec{r}_1) \quad (2.37)$$

### 2.1.3.2. Aproximación MO-LCAO (Molecular Orbital - Linear Combination of Atomic Orbitals).

Roothaan mostró como convertir la ecuación integro diferencial (2.37) en un conjunto de ecuaciones algebraicas, lo que se logra mediante la introducción de un conjunto de funciones espaciales conocidas[17]. Consideremos un conjunto de funciones espaciales  $\{\phi_\nu(\vec{r})\}$ . Si este conjunto fuera completo, cualquier función podría ser expresada de forma exacta como una combinación lineal de sus elementos. Sin embargo, por cuestiones computacionales prácticas este conjunto debe ser limitado a un número  $K$  de elementos.

De esta manera

$$\psi_i = \sum_{\nu=1}^K C_{\nu i} \phi_\nu \quad i = 1, 2, \dots, K \quad (2.38)$$

es una aproximación para la función de onda molecular de Hartree-Fock. La exactitud de esta función de onda depende de la completitud del conjunto  $\{\phi_\nu(\vec{r})\}$  y de la forma de sus elementos. Los elementos de este conjunto son llamados funciones base. Mediante esta aproximación el problema de calcular los orbitales moleculares se reduce a calcular los coeficientes de la expansión (2.38). Reemplazando (2.38) en (2.37), multiplicando por  $\phi_\mu^*(1)$ , e integrando tenemos:

$$\sum_{\nu} C_{\nu i} \int \phi_\mu^*(1) f(1) \phi_\nu(1) d\vec{r}_1 = \varepsilon_i \sum_{\nu} C_{\nu i} \int \phi_\mu^*(1) \phi_\nu(1) d\vec{r}_1 \quad (2.39)$$

De donde se definen las matrices:

$$S_{\mu\nu} = \int \phi_\mu^*(1) \phi_\nu(1) d\vec{r}_1 \quad (2.40)$$

$$F_{\mu\nu} = \int \phi_\mu^*(1) f(1) \phi_\nu(1) d\vec{r}_1 \quad (2.41)$$

como las matrices de Solapamiento y de Fock, respectivamente. Son matrices Hermitianas de dimensión  $K * K$ . Debido a que las funciones base son linealmente

independientes y normalizadas pero no necesariamente ortogonales, se tiene que  $0 \leq |S_{\mu\nu}| \leq 1$ . Es decir, los elementos de la diagonal de la matriz de solapamiento son iguales a la unidad y los elementos fuera de la diagonal varían entre 0 y 1. El signo de estos elementos depende del signo de las funciones base y de sus orientaciones y separaciones espaciales relativas. La matriz de Fock (2.41) es la representación matricial del operador de Fock en la base  $\{\phi_\nu\}$ .

Al reemplazar las definiciones (2.40) y (2.41) en (2.39) obtenemos las ecuaciones de Roothaan:

$$\sum_{\nu} F_{\mu\nu} C_{\nu i} = \varepsilon_i S_{\mu\nu} C_{\nu i} \quad i = 1, 2, \dots, K \quad (2.42)$$

y su forma matricial:

$$FC = SC\varepsilon \quad (2.43)$$

donde

$$C = \begin{bmatrix} C_{11} & C_{12} & \cdots & C_{1K} \\ C_{21} & C_{22} & \cdots & C_{2K} \\ \vdots & \vdots & & \vdots \\ C_{K1} & C_{K2} & \cdots & C_{KK} \end{bmatrix} \quad (2.44)$$

En (2.44) los elementos de las columnas son los coeficientes de las expansiones de los orbitales moleculares 1, 2 hasta  $K$ . En (2.43)  $\varepsilon$  es una matriz diagonal de las energías de los orbitales

$$\varepsilon = \begin{bmatrix} \varepsilon_1 & & & 0 \\ & \varepsilon_2 & & \\ & & \cdots & \\ 0 & & & \varepsilon_K \end{bmatrix} \quad (2.45)$$

### 2.1.3.3. El método de campo autoconsistente.

Si tenemos una molécula con su estructura electrónica de capa cerrada; es decir, con cada orbital molecular  $\psi_i$  conteniendo dos electrones, entonces la densidad de carga total es:

$$\rho(\vec{r}) = 2 \sum_i^{N/2} \psi_i^*(\vec{r}) \psi_i(\vec{r}) \quad (2.46)$$

Reemplazando en (2.46) la expansión del orbital molecular (2.38)

$$\rho(\vec{r}) = 2 \sum_i^{N/2} \sum_\nu C_{\nu i}^* \phi_\nu^*(\vec{r}) \sum_\mu C_{\mu i} \phi_\mu(\vec{r}) \quad (2.47)$$

$$\rho(\vec{r}) = \sum_{\mu\nu} \left[ 2 \sum_i^{N/2} C_{\mu i} C_{\nu i}^* \right] \phi_\mu(\vec{r}) \phi_\nu^*(\vec{r}) \quad (2.48)$$

$$\rho(\vec{r}) = \sum_{\mu\nu} P_{\mu\nu} \phi_\mu(\vec{r}) \phi_\nu^*(\vec{r}) \quad (2.49)$$

En donde se ha definido la matriz de densidad como:

$$P_{\mu\nu} = 2 \sum_i^{N/2} C_{\mu i} C_{\nu i}^* \quad (2.50)$$

Dado un conjunto de funciones base, la matriz  $P_{\mu\nu}$  especifica completamente la densidad de carga.

Se puede demostrar que para una molécula de capa cerrada el operador de Fock es[17]:

$$f(1) = h(1) + \sum_i^{N/2} (2J_i(1) - K_i(1)) \quad (2.51)$$

Los elementos de su representación matricial en la base  $\{\phi_\mu\}$  serán:

$$F_{\mu\nu} = \int \phi_\mu^*(1) f(1) \phi_\nu(1) d\vec{r}_1 \quad (2.52)$$

$$F_{\mu\nu} = \int \phi_\mu^*(1) h(1) \phi_\nu(1) d\vec{r}_1 + \sum_i^{N/2} \int \phi_\mu^*(1) [2J_i(1) - K_i(1)] \phi_\nu(1) d\vec{r}_1 \quad (2.53)$$

Usando la expansión (2.38) la Ec. (2.53) puede expresarse como[17]:

$$F_{\mu\nu} = H_{\mu\nu}^{core} + \sum_{\lambda\sigma} P_{\lambda\sigma} \{(\mu\nu|\sigma\lambda) - \frac{1}{2}(\mu\lambda|\sigma\nu)\} \quad (2.54)$$

Reescribimos (2.54) como:

$$F_{\mu\nu} = H_{\mu\nu}^{core} + G_{\mu\nu} \quad (2.55)$$

Donde  $H_{\mu\nu}^{core}$  son los elementos de la matriz Hamiltoniana que describen la energía cinética y la atracción nuclear de un electrón. Los elementos  $G_{\mu\nu}$  son las integrales bi electrónicas de la matriz de Fock. La evaluación y manipulación de las integrales  $G_{\mu\nu}$  es la parte más difícil de un cálculo Hartree-Fock. El número de integrales bi electrónicas para un  $K$  dado es  $K^4/8$ .

Es necesario mencionar que la nueva notación en la Ec. (2.54) para las integrales bi electrónicas, utilizando paréntesis en lugar de corchetes, es una convención para indicar que las integraciones son respecto únicamente a coordenadas espaciales. La forma general de las integrales bi electrónicas  $(\mu\nu|\sigma\lambda)$  y  $(\mu\lambda|\sigma\nu)$  es:

$$(\mu\nu|\sigma\lambda) = \int \phi_{\mu}^*(1)\phi_{\nu}(1)\frac{1}{r_{12}}\phi_{\sigma}^*(2)\phi_{\lambda}(2)d\vec{r}_1d\vec{r}_2 \quad (2.56)$$

En la ecuación (2.54) se observa que la matriz de Fock depende de la matriz de densidad

$$F = F(P) \quad (2.57)$$

lo que implica, según (2.50), que  $F$  depende de los coeficientes de la expansión (2.38). De manera que las ecuaciones de Roothaan:

$$F_{(C)}C = SC\varepsilon \quad (2.58)$$

son no lineales y deben ser resueltas por un método iterativo.

Si las funciones base fueran ortonormales todos los elementos fuera de la diagonal de la matriz de solapamiento  $S$  serían 0, por lo tanto  $S$  sería una matriz identidad, en este caso tendríamos que:

$$F_{(C)}C = C\varepsilon \quad (2.59)$$

Lo que constituye un problema de vectores y valores propios, que se resolvería a través de la diagonalización de  $F$ . El problema radica en que las funciones base  $\{\phi_\mu\}$  son normalizadas pero no ortogonales, lo que provoca que los elementos fuera de la diagonal de la matriz de solapamiento  $S$  sean distintos de 0. Para ortogonalizar las funciones base se debe calcular la matriz no singular de cambio de base  $X$ , tal que

$$X^\dagger SX = 1 \quad (2.60)$$

Si consideramos una nueva matriz de coeficientes  $C'$ , relacionada con la matriz antigua (2.44) mediante:

$$C' = X^{-1}C \quad C = XC' \quad (2.61)$$

Sustituyendo  $C$  en las ecuaciones de Roothaan (2.58)

$$F [XC'] = S [XC'] \varepsilon \quad (2.62)$$

Multiplicando por la izquierda por  $X^\dagger$

$$(X^\dagger FX)C' = (X^\dagger SX)C' \varepsilon \quad (2.63)$$

Definiendo la nueva matriz  $F'$  como:

$$F' = X^\dagger FX \quad (2.64)$$

entonces:

$$F'C' = C'\varepsilon \quad (2.65)$$

En este punto es posible describir el procedimiento iterativo de Hartree-Fock para calcular las funciones de onda restringidas (RHF) para moléculas de capa cerrada:

1. Especificar la molécula (coordenadas nucleares, números atómicos, número de electrones y funciones base  $\{\phi_\mu\}$ )
2. Calcular las integrales  $S_{\mu\nu}$  (2.40),  $H_{\mu\nu}^{core}$  (2.53), y todas las integrales bi electrónicas de la forma  $(\mu\nu|\lambda\sigma)$  (2.56).
3. Diagonalizar la matriz de solapamiento  $S$  y obtener la matriz de cambio de base  $X$  (2.60).
4. Obtener una estimación de la matriz de densidad  $P_{\mu\nu}$  (2.50).
5. Calcular la matriz  $G$  a partir de la matriz de densidad  $P_{\mu\nu}$  y de las integrales  $(\mu\nu|\lambda\sigma)$ .
6. Obtener la matriz de Fock  $F = H_{\mu\nu}^{core} + G$
7. Calcular la matriz de Fock transformada  $F' = X^\dagger F X$ .
8. Diagonalizar  $F'$  para obtener  $C'$  y  $\varepsilon$ . (2.65)
9. Calcular  $C = X C'$
10. Formar una nueva matriz de densidad  $P$  usando  $C$ .
11. Determinar si la matriz de densidad del paso 10 es la misma del paso 4. El criterio es que la diferencia entre estas matrices debe ser menor a un número relativamente pequeño (e.g.  $1 \times 10^{-5}$ ). Si no se satisface el criterio volver al paso 5 con la matriz de densidad del paso 10.
12. Si el procedimiento ha convergido, es decir, si se cumple el criterio del paso 11 usar la solución para calcular los valores esperados de otras magnitudes de interés.

#### 2.1.4. Conjuntos base.

Los elementos de un conjunto base  $\{\phi_\mu\}$ , es decir las funciones base  $\phi_\mu$ , pueden ser de tipos diferentes. En la práctica solo se usan dos: las funciones tipo Slater (2.66) y las funciones tipo gaussiano (2.67). Las funciones base tipo Slater describen mejor las características funcionales de los orbitales moleculares. Sin embargo, las integrales que contienen funciones tipo Slater son difíciles de evaluar [17, 18]. La utilización de funciones de tipo gaussiano simplifica los cálculos, a costa de perder



el comportamiento funcional adecuado para la representación de los orbitales moleculares.

Funciones tipo Slater:

$$\begin{aligned}
 \phi_{1s}^{Slater} &= \left( \frac{\zeta_1^3}{\pi} \right)^{1/2} e^{-\zeta_1 r} \\
 \phi_{2s}^{Slater} &= \left( \frac{\zeta_2^5}{96\pi} \right)^{1/2} r e^{-\frac{\zeta_2 r}{2}} \\
 \phi_{2px}^{Slater} &= \left( \frac{\zeta_2^5}{32\pi} \right)^{1/2} x e^{-\frac{\zeta_2 r}{2}}
 \end{aligned} \tag{2.66}$$

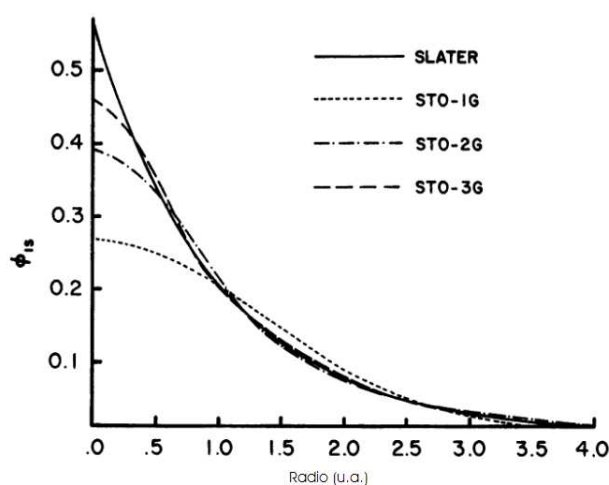
Las funciones tipo gaussiano  $\phi_s$ ,  $\phi_x$ ,  $\phi_y$ ,  $\phi_z$  tienen las simetrías angulares de los orbitales atómicos tipo s y tipo p, respectivamente. Las funciones gaussianas de segundo orden  $\phi_{xx}$ ,  $\phi_{xy}$ , etc, no tienen la simetría angular de los orbitales atómicos pero pueden ser combinadas para dar funciones tipo d [45].

$$\begin{aligned}
 \phi_s^{Gauss} &= \left( \frac{2\alpha}{\pi} \right)^{3/4} e^{-\alpha r^2} \\
 \phi_x^{Gauss} &= \left( \frac{128\alpha^5}{\pi^3} \right)^{1/4} x e^{-\alpha r^2} \\
 \phi_y^{Gauss} &= \left( \frac{128\alpha^5}{\pi^3} \right)^{1/4} y e^{-\alpha r^2} \\
 \phi_z^{Gauss} &= \left( \frac{128\alpha^5}{\pi^3} \right)^{1/4} z e^{-\alpha r^2} \\
 \phi_{xx}^{Gauss} &= \left( \frac{2048\alpha^7}{9\pi^3} \right)^{1/4} x^2 e^{-\alpha r^2} \\
 \phi_{yy}^{Gauss} &= \left( \frac{2048\alpha^7}{9\pi^3} \right)^{1/4} y^2 e^{-\alpha r^2} \\
 \phi_{zz}^{Gauss} &= \left( \frac{2048\alpha^7}{9\pi^3} \right)^{1/4} z^2 e^{-\alpha r^2} \\
 \phi_{xy}^{Gauss} &= \left( \frac{2048\alpha^7}{\pi^3} \right)^{1/4} xy e^{-\alpha r^2} \\
 \phi_{xz}^{Gauss} &= \left( \frac{2048\alpha^7}{\pi^3} \right)^{1/4} xz e^{-\alpha r^2} \\
 \phi_{yz}^{Gauss} &= \left( \frac{2048\alpha^7}{\pi^3} \right)^{1/4} yz e^{-\alpha r^2}
 \end{aligned} \tag{2.67}$$

### 2.1.4.1. Orbitales Tipo Slater (STO).

El problema del comportamiento funcional de los orbitales tipo gaussiano se soluciona cuando se aproxima un orbital de tipo Slater mediante una combinación lineal de funciones gaussianas. Estas combinaciones lineales se denominan contracciones. En (2.68)  $L$  es la longitud de la contracción,  $d_{p\mu}$  es un coeficiente de contracción, y  $\alpha_{p\mu}$  es un exponente de contracción. Mediante la elección adecuada de estos parámetros (a través de un ajuste de mínimos cuadrados), la función base puede asumir cualquier forma funcional que reproduzca las características de los orbitales moleculares. Es importante mencionar que estos parámetros no cambian durante el procedimiento de Hartree-Fock. Los conjuntos base de este tipo se notan como STO-LG donde  $L$  es el número de funciones tipo gaussianas utilizadas en la contracción.

$$\phi_{\mu} = \sum_{p=1}^L d_{p\mu} \phi_{p\mu}^{Gauss}(\alpha_{p\mu}, r) \quad (2.68)$$



**Figura 2.3.** Una función de Slater 1s aproximada mediante 1, 2 y 3 funciones Gaussianas. Adaptada de Ref. [17]

En particular el conjunto base STO-3G utiliza 3 funciones gaussianas para aproximarse a un orbital tipo Slater, Figura 2.3. Este conjunto base también llamado conjunto de base mínimo es muy utilizado en los cálculos moleculares de Hartree-Fock. Se lo conoce como mínimo porque tiene el mínimo número de funciones base por átomo requeridas para describir los orbitales atómicos ocupados. Por ejemplo, usa 1 sola función base para el H y He, 5 para el Li hasta el Ne, etc. Debido a

que este conjunto base es pequeño no produce resultados precisos, pero es útil al proporcionar características cualitativas del enlace químico[17].

#### 2.1.4.2. Conjuntos base triple zeta.

Hasta aquí los orbitales moleculares se han construido como combinaciones lineales de orbitales atómicos constituidos de funciones base. A su vez, las funciones base han sido aproximadas mediante combinaciones de funciones gaussianas, con coeficientes y exponentes apropiados para cada tipo de orbital. Consideremos el conjunto base STO-3G, en lugar de construir una función base como la suma de tres funciones gaussianas se podrían construir dos funciones base para cada orbital atómico, la primera siendo una contracción de dos gaussianas y la segunda siendo una sola gaussiana. Desde el punto de vista químico los orbitales de valencia son más activos que los orbitales más internos, debido a esto es necesario un tratamiento diferente para cada tipo de orbital. Los orbitales internos siguen siendo aproximados mediante una sola función base, mientras que los orbitales de valencia son aproximados mediante dos o más funciones base.

Con estas consideraciones se han desarrollado conjuntos base del tipo 3-21G. Esta notación indica que los orbitales internos son descritos mediante una sola función base que es la combinación de 3 gaussianas; mientras que los orbitales de valencia son aproximados mediante dos funciones base, la primera consiste en la combinación de 2 gaussianas y la segunda es una sola gaussiana. De la misma manera se han construido los conjuntos base 6-21G, 4-31G y 6-31G. Por el tratamiento de los orbitales de valencia estos conjuntos base son llamados doble zeta.

Un conjunto base triple zeta es 6-311G. La notación indica que una función base que describe un orbital interno es aproximada por 6 gaussianas. Los orbitales de valencia son descritos por tres funciones base, la primera es la combinación de 3 gaussianas y las otras dos funciones base consisten cada una de una sola gaussiana. Se podría seguir incrementado la flexibilidad de los orbitales mediante conjuntos base cuádruple zeta; sin embargo, se han establecido límites óptimos para balancear el grado de división de los conjuntos base con el tiempo computacional y la calidad de los resultados. De esta manera antes de utilizar conjuntos base con un mayor grado de división es mejor utilizar conjuntos base polarizados.

### 2.1.4.3. Conjuntos base polarizados.

Si al átomo de Hidrógeno con su orbital 1s se le aplica un campo eléctrico uniforme, la nube electrónica será atraída a la dirección del campo y se distorsionaría la distribución de carga. Una forma de representar esta nueva distribución de carga sería combinar un orbital tipo s con un orbital tipo p, como se indica en la Figura 2.4. De manera análoga cada átomo en una molécula está sometido a un campo eléctrico no uniforme, y la modificación de la distribución de carga puede ser considerada mediante la suma de funciones de polarización tipo p o tipo d al conjunto base. En general, se suman funciones tipo *p* a los elementos del primer período y funciones tipo *d* a los átomos del segundo período. Estos conjuntos base se notan *6-311G(d,p)* o *6-311G\*\**.

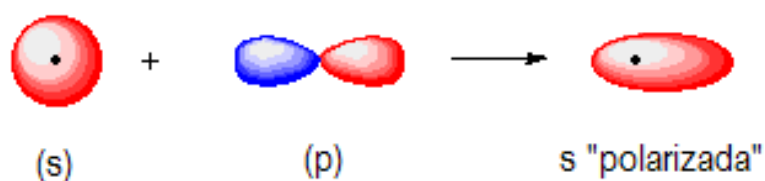


Figura 2.4. Suma de una función tipo s y una función tipo p.

## 2.2. Geometrías de equilibrio.

En la aproximación de Born-Oppenheimer la energía total de una molécula como función de las coordenadas de los núcleos define una superficie de energía potencial. En esta superficie nos interesan los puntos críticos, es decir, aquellos donde el gradiente es cero. Los puntos críticos corresponden a estados de transición, a mínimos locales o al mínimo global. En los mínimos de esta superficie se localizan las coordenadas nucleares de las geometrías moleculares de equilibrio.

Partiendo de una estructura inicial se resuelve la ecuación de Schrödinger electrónica para obtener la energía y el gradiente de esta estructura. Utilizando la información del gradiente se ajustan las coordenadas nucleares para que estén más próximas al mínimo energético, y se calculan nuevamente la energía y el gradiente de esta nueva estructura. Este proceso se repite hasta que el módulo del gradiente de energía sea muy cercano a cero. Esto indica que se pudo haber encontrado un mínimo en las proximidades de la estructura inicial.

La velocidad de la convergencia en la búsqueda de las geometrías de equilibrio depende de las coordenadas usadas. Se pueden usar coordenadas cartesianas o

coordenadas internas, en estas últimas se especifican las posiciones de los átomos en base a las distancias de enlace, ángulos de enlace y ángulos diedro. Para moléculas no rígidas que contienen más de 30 átomos la convergencia es más rápida usando coordenadas internas[16].

Las búsquedas de geometrías de equilibrio se realizan mediante el método de cuasi-Newton[16]. Este método asume una superficie de potencial cuadrática y requiere el vector de gradiente exacto y una aproximación para la matriz Hessiana. Para ilustrar este procedimiento consideremos que la energía  $E$  sea una función de las variables  $x$  y  $y$ . Sean  $x_1$  y  $y_1$  las coordenadas iniciales, si se desprecian los términos de grado mayor a 2 en la serie de Taylor se tiene:

$$E(x, y) \approx E(x_1, y_1) + (x - x_1) \left. \frac{\partial E}{\partial x} \right|_{x_1, y_1} + (y - y_1) \left. \frac{\partial E}{\partial y} \right|_{x_1, y_1} + \frac{1}{2}(x - x_1)^2 \left. \frac{\partial^2 E}{\partial x^2} \right|_{x_1, y_1} \\ + (x - x_1)(y - y_1) \left. \frac{\partial^2 E}{\partial x \partial y} \right|_{x_1, y_1} + \frac{1}{2}(y - y_1)^2 \left. \frac{\partial^2 E}{\partial y^2} \right|_{x_1, y_1} \quad (2.69)$$

La aproximación cuadrática (2.69) funciona bien en una región cercana al mínimo. El cálculo *ab initio* de los elementos de la matriz Hessiana (segundas derivadas parciales de la energía) consume mucho tiempo; usualmente se comienza con una Hessiana aproximada y se mejora esta aproximación a medida que se avanza en la optimización de la geometría. Puesto que en este caso la matriz Hessiana es una matriz de constantes de fuerza, la Hessiana aproximada se establece en base a constantes de fuerza típicas de los tipos de enlace y ángulos de enlace que presenta la molécula cuya geometría de equilibrio se quiere localizar.

Sean,

$$E_x = \frac{\partial E}{\partial x}, \quad E_y = \frac{\partial E}{\partial y}, \quad E_{xx} = \frac{\partial^2 E}{\partial x^2}, \quad E_{xy} = \frac{\partial^2 E}{\partial x \partial y}, \quad E_{yy} = \frac{\partial^2 E}{\partial y^2}, \quad (2.70)$$

Si usamos el subíndice 1 para indicar la evaluación en un punto 1, con esta notación (2.69) sería:

$$E(x, y) \approx E_1 + E_{x,1}(x - x_1) + E_{y,1}(y - y_1) + \frac{1}{2}E_{xx,1}(x - x_1)^2 \\ + E_{xy,1}(x - x_1)(y - y_1) + \frac{1}{2}E_{yy,1}(y - y_1)^2 \quad (2.71)$$

En el mínimo, las derivadas parciales de  $E$  con respecto a  $x$  y  $y$  son iguales a 0,

$$E_x \approx E_{x,1} + E_{xx,1}(x - x_1) + E_{xy,1}(y - y_1) = 0 \quad (2.72)$$

$$E_y \approx E_{y,1} + E_{yy,1}(y - y_1) + E_{xy,1}(x - x_1) = 0 \quad (2.73)$$

Sea  $(x_2, y_2)$  el punto en el que estas derivadas se anulan, entonces

$$E_{x,1} + E_{xx,1}(x_2 - x_1) + E_{xy,1}(y_2 - y_1) = 0 \quad (2.74)$$

$$E_{y,1} + E_{yy,1}(y_2 - y_1) + E_{xy,1}(x_2 - x_1) = 0 \quad (2.75)$$

Resolviendo para  $x_2$  y  $y_2$

$$x_2 = x_1 + \frac{E_{xy,1}E_{y,1} - E_{yy,1}E_{x,1}}{E_{xx,1}E_{yy,1} - (E_{xy,1})^2} \quad (2.76)$$

$$y_2 = y_1 + \frac{E_{xy,1}E_{x,1} - E_{xx,1}E_{y,1}}{E_{xx,1}E_{yy,1} - (E_{xy,1})^2} \quad (2.77)$$

Para continuar con el proceso se definen los puntos

$$x'_2 = x_1 + \alpha(x_2 - x_1) \quad (2.78)$$

$$y'_2 = y_1 + \alpha(y_2 - y_1) \quad (2.79)$$

Para calcular  $\alpha$  se expresa  $E(\alpha)$  como un polinomio de tercer o cuarto grado cuyos coeficientes se determinan mediante las condiciones:

$$E(\alpha_1) = E(x_1, y_1), \quad E(\alpha_2) = E(x_2, y_2) \quad (2.80)$$

$$\text{grad}[E(\alpha_1)] = \text{grad}[E(x_1, y_1)], \quad \text{grad}[E(\alpha_2)] = \text{grad}[E(x_2, y_2)] \quad (2.81)$$

Una vez que se ha definido este polinomio se determina el  $\alpha$  que minimiza  $E(\alpha)$  y se obtienen los nuevos puntos  $x'_2, y'_2$ . Con estas nuevas coordenadas se efectúa un cálculo de Hartree-Fock para la energía y el gradiente en  $(x'_2, y'_2)$ . Se mejora la Hessiana mediante la resolución del sistema

$$E_{x,2'} = E_{x,1} + E_{xx,2'}(x_{2'} - x_1) + E_{xy,2'}(y_2 - y_1) \quad (2.82)$$

$$E_{y,2'} = E_{y,1} + E_{yy,2'}(y_{2'} - y_1) + E_{xy,2'}(x_2 - x_1) \quad (2.83)$$

Tenemos dos ecuaciones con tres incógnitas (segundas derivadas parciales), este inconveniente se soluciona con el procedimiento de Broyden, Fletcher, Goldfarb, Shanno[16]. Habiendo calculado los elementos de la nueva Hessiana se reemplaza en (2.76) y (2.77) 1 por 2' para obtener las nuevas coordenadas  $(x_3, y_3)$ . Se examina la convergencia verificando que los cambios en las coordenadas sean menores a cierta cantidad pequeña y que el gradiente sea muy próximo a cero. Si estas condiciones se cumplen se ha encontrado la geometría de equilibrio, caso contrario se repite el procedimiento. Para comprobar que se ha encontrado un mínimo y no un estado de transición, se verifica la naturaleza del punto crítico. Esto se hace mediante un análisis vibracional. Para un mínimo todas las frecuencias encontradas serán reales. En un estado de transición una de las frecuencias calculadas será imaginaria (negativa).

## 2.3. Propiedades Electroestáticas.

### 2.3.1. El Potencial Electroestático Molecular (MEP).

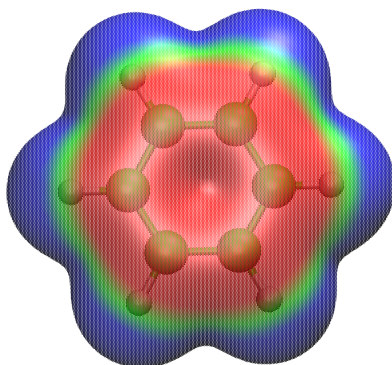
La distribución de la densidad electrónica de una molécula contiene mucha información acerca de sus propiedades y sus posibilidades de interacción con otras moléculas. El Potencial Electroestático Molecular es una cantidad física que puede ser calculada a partir de la función de onda molecular y que proporciona información acerca de la polaridad local de una molécula. El MEP  $V(\vec{r})$  en un punto  $\vec{r}$  al cual está sometida una carga de prueba positiva debido a la carga de una molécula es el resultado de dos componentes, una debido a los núcleos y la otra debido a la distribución de la carga electrónica. Utilizando el formalismo presentado en la sección 2.1.4 el MEP puede ser expresado como:

$$V(\vec{r}) = \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{|\vec{R}_A - \vec{r}|} - \sum_{\mu\nu} P_{\mu\nu} \int \frac{\phi_{\mu}(\vec{r}')\phi_{\nu}(\vec{r}')}{|\vec{r} - \vec{r}'|} d\vec{r}' \quad (2.84)$$

Donde  $P_{\mu\nu}$  es un elemento de la matriz de densidad y  $\phi_{\mu}$ ,  $\phi_{\nu}$  son funciones base. Los resultados de la evaluación del MEP no dependen significativamente de la elección del conjunto base y de la consideración o no de la correlación electrónica[16].

Para moléculas en el estado base la aproximación de Hartree-Fock proporciona valores confiables del MEP. Los valores del MEP pueden ser positivos, negativos o nulos. Una molécula electrofílica (amante de los electrones) será atraída a las regiones donde el MEP es negativo, particularmente donde es mínimo  $V_{min}$ . Se ha probado que existe una correlación entre la reactividad electrofílica de una molécula con la magnitud de  $V_{min}$ . [19]

Hay dos formas de visualizar el MEP, una en isosuperficies (regiones espaciales con el mismo valor del MEP) y otra en una superficie molecular determinada. La superficie molecular más utilizada para representar el MEP es la de van der Waals. Cada átomo puede ser modelado como una esfera con un radio particular de van der Waals, en átomos enlazados estas esferas se solapan. La superficie molecular de van der Waals es definida por las caras externas de estas esferas [16]. La superficie de van der Waals se colorea de acuerdo a los valores del MEP, convencionalmente los MEP más negativos son rojos y los más positivos son azules. Los otros valores se interpolan para que correspondan al espectro de colores [18]. Figura 2.5.



**Figura 2.5.** Potencial electrostático molecular del benceno. La región roja corresponde a valores de MEP negativos, la azul a valores positivos y las verdes a un potencial nulo. Nótese que el área roja corresponde a la región de deslocalización de los electrones.

Las interacciones intermoleculares están determinadas por distintos tipos de complementariedades. La complementariedad estérica se refiere a las características de las superficies de van der Waals de las moléculas interactuantes. Estas características permiten o no que una molécula encaje en la otra. La complementariedad electrostática permite que las moléculas se enlacen mediante interacciones electrostáticas, por ejemplo con enlaces hidrógeno. Estas complementariedades constituyen el mecanismo de “llave y candado” de las interacciones moleculares [19].



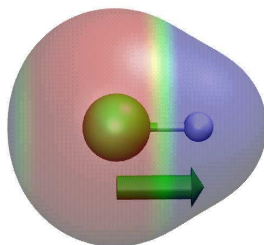
### 2.3.2. Momentos dipolares.

El momento dipolar es una medida del grado de polarización de una molécula, es decir, de como la carga positiva y negativa está distribuida. Los momentos dipolares son útiles porque a distancias relativamente grandes de la molécula su distribución electrónica puede ser representada como un dipolo. De esta manera las interacciones intermoleculares pueden ser aproximadas como interacciones dipolo-dipolo[18]. La definición del momento dipolar clásico del conjunto de cargas  $q_i$  en las posiciones  $\vec{r}_i$  es:

$$\vec{\mu} = \sum_i q_i \vec{r}_i \quad (2.85)$$

La correspondiente definición cuántica que toma en cuenta la contribución de los electrones de carga  $-1$  y la de los núcleos de carga  $Z_A$  es:

$$\vec{\mu} = \left\langle \Psi_o \left| - \sum_{i=1}^N \vec{r}_i \right| \Psi_o \right\rangle + \sum_A Z_A \vec{R}_A \quad (2.86)$$



**Figura 2.6.** Representación del momento dipolar del ácido clorhídrico  $\mu = 1,03$  Debyes. El vector de momento dipolar señala hacia la región menos electronegativa, en este caso hacia el átomo de Hidrógeno.

## 2.4. GAMESS.

GAMESS (General Atomic and Molecular Electronic Structure System) es un software de Química Cuántica que realiza cálculos moleculares *ab initio*[20]. Está escrito en lenguaje Fortran y puede ser ejecutado en múltiples plataformas (Linux, Macintosh, Windows). Mediante el método de campo autoconsistente puede calcular funciones de onda Hartree-Fock restringidas (RHF), u otras relacionadas con

niveles de teoría más sofisticados no tratados en el presente trabajo. Estos cálculos pueden llevarse a cabo con un gran número de conjuntos base. La mayoría de los cálculos pueden ejecutarse en paralelo si se dispone del hardware apropiado. Algunas capacidades de GAMESS son:

- Optimizar geometrías moleculares usando el gradiente de energía, en coordenadas internas o cartesianas. Las optimizaciones se realizan a través de diferentes implementaciones del método de cuasi-Newton. La implementación por defecto es la Aproximación Cuadrática (QA), cuyos algoritmos están desarrollados para guiar la búsqueda de la geometría de equilibrio en la dirección correcta.
- Buscar puntos críticos (estados de transición) en la superficie de energía potencial.
- Calcular las frecuencias de los modos normales de vibración.
- Calcular los momentos dipolares, el potencial electrostático, el campo eléctrico, la densidad electrónica, la densidad de spin, análisis de población de Mulliken y Lowding.
- Calcular la corrección de energía de correlación electrónica usando la teoría del funcional de la densidad electrónica (DFT), o la teoría de perturbaciones MP2.
- Calcular funciones de onda con métodos semi-empíricos.

Entre las ventajas de GAMESS podemos mencionar que es software libre, desarrollado por el Gordon Research Group de la Iowa State University. Constituye una alternativa confiable al software comercial Gaussian. Además tiene una comunidad de ayuda en línea muy activa.

## 2.5. Dinámica Molecular.

La evolución temporal de los sistemas moleculares es descrita apropiadamente por las ecuaciones del movimiento mecano cuánticas[18]. Sin embargo, muchos sistemas moleculares son demasiado grandes y su estudio requiere un alto costo computacional para ser tratados con la mecánica cuántica. Debido a esto se

utiliza una descripción clásica: se ignoran los movimientos de los electrones y se calcula la energía del sistema como función de las posiciones y velocidades nucleares[21, 22, 23]. Las configuraciones sucesivas del sistema se obtienen integrando las ecuaciones del movimiento de Newton. El resultado es una trayectoria que especifica como varían con el tiempo las posiciones y velocidades de los átomos.

### 2.5.1. Campo de fuerzas.

Un sistema clásico está descrito por el Hamiltoniano clásico, el mismo que es función de las coordenadas  $\vec{r}$  y los momentos  $\vec{p}$  de los elementos del sistema. Cuando la energía potencial solo depende de  $\vec{r}$  el Hamiltoniano  $H$  es igual a la energía total[24]. La energía total del sistema es la suma de la energía cinética total  $K$  y de la energía potencial  $U$ , Ec. (2.87). Cada estado del sistema corresponde a un punto en el espacio de fases  $\{\vec{r}, \vec{p}\}$ .

$$H(\vec{r}, \vec{p}) = K(\vec{p}) + U(\vec{r}) \quad (2.87)$$

Se conoce que[24]:

$$\frac{d\vec{p}_i}{dt} = -\frac{\partial H}{\partial r_i} \quad (2.88)$$

A partir de la definición de momento y considerando que las masas de las partículas se mantienen constantes:

$$\frac{d\vec{p}_i}{dt} = m_i \frac{d\vec{v}_i}{dt} = \vec{F}_i \quad (2.89)$$

Igualando (2.88) y (2.89)

$$\vec{F}_i = -\nabla_i U(\vec{r}) \quad (2.90)$$

Entonces, para conocer la fuerza que actúa sobre una partícula es necesario determinar la función de energía potencial  $U(\vec{r})$ . La energía potencial total del sistema puede ser separada en términos de interacciones intra (2.92) e intermoleculares

(2.93). Los términos internos están asociados a los átomos enlazados covalentemente y los términos externos a las interacciones de los átomos no enlazados[23]. La Figura 2.7 permite visualizar algunos de estos términos.

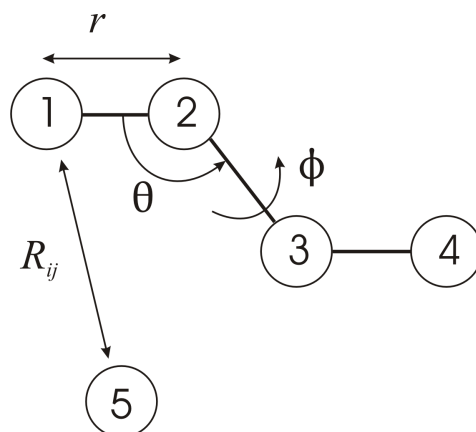
$$U(\vec{r})_{total} = U(\vec{r})_{interno} + U(\vec{r})_{externo} \quad (2.91)$$

donde:

$$U(\vec{r})_{interno} = \sum_{enlaces} k_r(r - r_{eq})^2 + \sum_{ángulos} k_\theta(\theta - \theta_{eq})^2 + \sum_{diedros} \frac{v_n}{2} [1 + \cos(n\phi - \gamma)] \quad (2.92)$$

$$U(\vec{r})_{externo} = \sum_{i < j} \left[ \frac{A_{ij}}{R_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{R_{ij}^6} + \frac{q_i q_j}{\epsilon R_{ij}} \right] \quad (2.93)$$

En las ecuaciones (2.92) y (2.93) las longitudes de enlace  $r$ , ángulos de enlace  $\theta$ , ángulos diedro  $\phi$  y distancias internucleares  $R_{ij}$  se obtienen de la estructura tridimensional del sistema molecular. El resto de términos ( $k$ ,  $v_n$ ,  $n$ ,  $\gamma$ ,  $A$ ,  $B$ ,  $q$ ) son parámetros asociados a diferentes tipos de átomos y a los enlaces que se forman entre ellos (entorno químico). La forma funcional de la energía potencial no es única; en este caso (2.92) y (2.93) corresponden al campo de fuerzas *General Amber Force Field*[25] que será utilizado en el presente trabajo. Para definir un campo de fuerzas es necesario especificar su forma funcional y sus parámetros. Campos de fuerza con la misma forma funcional pero con diferentes parámetros y campos de fuerza con diferentes formas funcionales pueden dar resultados de exactitud comparable[21].



**Figura 2.7.** Ilustración de los términos internos y externos en la función de energía potencial. Los átomos 1 a 4 corresponden a una molécula A y el átomo 5 corresponde a una molécula B.

En (2.92) los términos de longitudes de enlace y ángulos de enlace están represen-

tados por un potencial armónico[21, 23].  $r_{eq}$  es la longitud de enlace de equilibrio para un enlace entre dos átomos específicos y  $k_r$  es su constante de fuerza.  $\theta_{eq}$  es el ángulo de enlace de equilibrio entre tres átomos específicos y  $k_\theta$  es su constante de fuerza. En el término de los ángulos diedros  $v_n$  es un indicador de la barrera energética que un enlace debe vencer para rotar.  $n$  es la multiplicidad y su valor corresponde al número de puntos mínimos del término de torsión cuando el enlace rota  $360^\circ$ .  $\gamma$  es el factor de fase y determina los ángulos en los cuales el término de torsión alcanza sus valores mínimos.

El término de interacciones intermoleculares (2.93) se refiere a las interacciones electrostáticas y las interacciones de van der Waals. La distribución de la carga en una molécula puede ser representada como un arreglo de cargas puntuales en cada átomo; estas cargas deben reproducir las propiedades electrostáticas de la molécula[21]. La interacción electrostática entre dos moléculas, o entre dos regiones diferentes de la misma molécula se calcula como la suma de las interacciones entre los pares de cargas puntuales  $q_i, q_j$ , separadas por una distancia  $R_{ij}$  mediante la ley de Coulomb.

Las interacciones de van der Waals comprenden un balance entre fuerzas atractivas y repulsivas. Las fuerzas atractivas son de largo alcance mientras que las fuerzas repulsivas actúan a distancias cortas. Las fuerzas atractivas son conocidas como fuerzas de London y representan las interacciones dipolo-dipolo. Las fuerzas repulsivas provienen de la interacción de intercambio originada en el principio de exclusión de Pauli[21]. La función que representa las interacciones de van der Waals es el potencial de Lennard-Jones  $V_{L-J}$  que tiene como parámetros  $A_{ij}$ , y  $B_{ij}$ , calculados para la separación internuclear  $R_{ij}$  en la cual la energía es mínima. Figura 2.8.

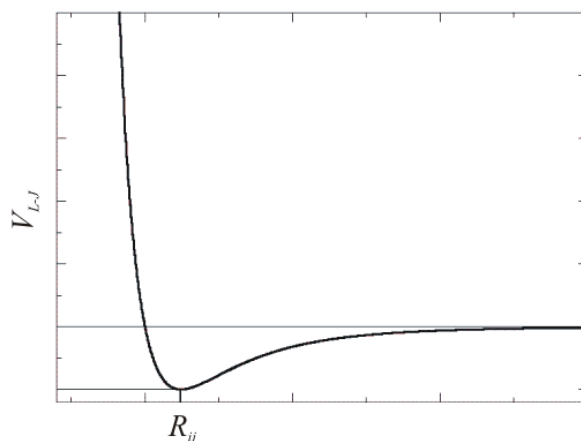


Figura 2.8. Potencial de Lennard-Jones.

### 2.5.1.1. El campo de fuerzas GAFF (General Amber Force Field).

En la sección anterior se mencionó que para definir un campo de fuerzas para una molécula específica es necesario establecer su forma funcional y sus parámetros. La derivación de los parámetros no es una tarea trivial; se lleva a cabo mediante un proceso complejo que inicia con la recolección de datos objetivo acerca de las estructuras y propiedades de la molécula a estudiarse[23]. Estos datos objetivo (e.g. estructuras, energías de interacción, espectros IR) provienen de experimentos o de cálculos mecano cuánticos. Una vez que se han reunido estos datos, los parámetros del campo de fuerzas son optimizados para que este reproduzca el conjunto de datos objetivo. Cuando el campo de fuerzas está completamente determinado su aplicación no debe limitarse a reproducir las propiedades moleculares pre establecidas; sino que además debe predecir de forma confiable el comportamiento dinámico de la molécula en una variedad de entornos químicos.

A nivel de proteínas, ácidos nucleicos, o lípidos los parámetros de sus piezas constitutivas (aminoácidos, azúcares, etc.) ya han sido establecidos y están en constante perfeccionamiento. Para este tipo de macro moléculas existen parámetros para los campos de fuerza CHARMM, AMBER, entre otros[23]. Este no es el caso de las moléculas orgánicas o farmacológicas de bajo peso molecular, ya que debido a su gran número su parametrización individual es impracticable. Sin embargo, estos parámetros son necesarios cuando se quieren estudiar las interacciones ligando-proteína, ligando-ADN, radical-antioxidante o los procesos de *docking* importantes en farmacología. Para solucionar este inconveniente se han desarrollado campos de fuerzas generales que se aplican a un gran número de moléculas orgánicas o farmacológicas[25].

El General Amber Force Field (GAFF por sus siglas en inglés) es un campo de fuerzas orientado al estudio de moléculas orgánicas con propiedades farmacológicas[25]. Su forma funcional se presenta en la ecuación (2.94). GAFF se caracteriza por su número limitado de tipos de átomos, en total 35. Tabla 2.1. Los tipos de átomos se han definido de acuerdo a los siguientes criterios: elemento, hibridación, aromaticidad y ambiente químico. Para estos tipos de átomos todos los parámetros están definidos. Si en una molécula particular faltan algunos parámetros estos se determinan a partir de reglas empíricas, implementadas en las herramientas computacionales desarrolladas para el campo de fuerzas AMBER.

No	Tipo	Descripción	No	Tipo	Descripción
1	c	Carbono $sp^2$ en C=O, C=S	19	ss	Azufre $sp^3$ en -SR y S-S
2	c1	Carbono $sp^1$	20	s4	Azufre con 3 sustituyentes
3	c2	Carbono $sp^2$ , alifático.	21	s6	Azufre con 4 sustituyentes
4	c3	Carbono $sp^3$	22	p2	Fósforo $sp^2$ (C=P, etc)
5	ca	Carbono $sp^2$ , aromático	23	p3	Fósforo $sp^3$ , 3 sustituyentes
6	n	Nitrógeno $sp^2$ en amidas	24	p4	Fósforo hipervalente, 3 sust.
7	n1	Nitrógeno $sp^1$	25	p5	Fósforo hipervalente, 4 sust.
8	n2	Nitrógeno $sp^2$ con 2 sustituyentes	26	hc	Hidrógeno en carbono alifático
9	n3	Nitrógeno $sp^3$ con 3 sustituyentes	27	ha	Hidrógeno en carbono aromático
10	n4	Nitrógeno $sp^3$ con 4 sustituyentes	28	hn	Hidrógeno en nitrógeno
11	na	Nitrógeno $sp^2$ con 3 sustituyentes	29	ho	Hidrógeno en oxígeno
12	nh	Nitrógeno en aminas enlaz. anill. aro.	30	hs	hidrógeno en azufre
13	no	Nitrógeno en grupos nitro	31	hp	Hidrógeno es fósforo.
14	o	Oxígeno $sp^2$ en C=O, COO-	32	f	Cualquier flúor
15	oh	Oxígeno $sp^3$ en grupos hidroxilo	33	cl	Cualquier flúor
16	os	Oxígeno $sp^3$ en éteres y ésteres	34	br	Cualquier bromo
17	s2	Azufre $sp^2$ (p=S, C=S, etc.)	35	i	Cualquier yodo
18	sh	Azufre $sp^3$ en grupos tiol			

**Tabla 2.1.** Tipos de átomos definidos en GAFF

$$\begin{aligned}
 U(\vec{r}) = & \sum_{enlaces} k_r (r - r_{eq})^2 + \sum_{ángulos} k_\theta (\theta - \theta_{eq})^2 + \sum_{diedros} \frac{v_n}{2} [1 + \cos(n\phi - \gamma)] + \\
 & + \sum_{i < j} \left[ \frac{A_{ij}}{R_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{R_{ij}^6} + \frac{q_i q_j}{\epsilon R_{ij}} \right] \quad (2.94)
 \end{aligned}$$

### 2.5.2. Integración de las ecuaciones del movimiento.

En la dinámica molecular las configuraciones sucesivas del sistema son generadas integrando las ecuaciones del movimiento de Newton. El resultado es una trayectoria que especifica como las posiciones y las velocidades de las partículas del sistema cambian con el tiempo. En los modelos de interacciones moleculares la fuerza en cada partícula cambiará cuando la partícula cambie su posición o cuando cualquiera de las otras partículas con las que interactúa cambie su posición. Esto da origen a un problema de muchos cuerpos que no puede ser resuelto analíticamente, debido a esto las ecuaciones del movimiento son integradas usando el método de la diferencia finita[21, 26].

La idea principal del método de la diferencia finita es que la integración es dividida en pequeñas etapas, cada una separada en el tiempo por una cantidad fija  $\Delta t$ .

Las coordenadas y velocidades a un tiempo  $t + \Delta t$  se obtienen a partir de las coordenadas y velocidades en un tiempo anterior  $t$ . La expansión de Taylor de la posición al tiempo  $t + \Delta t$  alrededor del tiempo  $t$  es:

$$\vec{r}(t + \Delta t) = \vec{r}(t) + \dot{\vec{r}}(t)\Delta t + \frac{1}{2}\ddot{\vec{r}}(t)\Delta t^2 + \dots \quad (2.95)$$

Es conveniente escribir la ecuación (2.95) usando  $\vec{r}_n$  para indicar la posición en el paso  $n$  (tiempo  $t$ ) y  $\vec{r}_{n+1}$  para indicar la posición en el siguiente paso  $n + 1$  (tiempo  $t + \Delta t$ ). Además, reescribiendo  $\vec{v} = \dot{\vec{r}}$  y considerando que  $\vec{F} = m\ddot{\vec{r}}$  tenemos:

$$\vec{r}_{n+1} = \vec{r}_n + \vec{v}_n\Delta t + \frac{1}{2}\frac{\vec{F}_n}{m}\Delta t^2 + O(\Delta t^3) \quad (2.96)$$

Análogamente

$$\vec{r}_{n-1} = \vec{r}_n - \vec{v}_n\Delta t + \frac{1}{2}\frac{\vec{F}_n}{m}\Delta t^2 - O(\Delta t^3) \quad (2.97)$$

Sumando (2.96) y (2.97)

$$\vec{r}_{n+1} = 2\vec{r}_n - \vec{r}_{n-1} + \frac{\vec{F}_n}{m}\Delta t^2 + O(\Delta t^4) \quad (2.98)$$

Las expresiones (2.97) y (2.98) constituyen el algoritmo de Verlet[26]. Este algoritmo consta de dos pasos que se repiten para cada átomo en la molécula, en cada avance en el intervalo temporal  $\Delta t$ :

1. Usar la posición actual  $\vec{r}_n$  para calcular la fuerza  $\vec{F}_n$ .
2. Calcular el siguiente paso  $\vec{r}_{n+1}$  usando la ecuación (2.98) reemplazando  $\vec{r}_{n-1}$  dado por (2.98).

Para resolver las ecuaciones de Newton se requieren las coordenadas y velocidades iniciales de los átomos. Las coordenadas se obtienen mediante técnicas experimentales, tales como la difracción de rayos X o la resonancia magnética nuclear. Las velocidades iniciales dependen de la temperatura del sistema. Las velocidades de los átomos se asignan de manera aleatoria partiendo de una distribución de velocidades de Maxwell. Iniciar una simulación a una temperatura alta puede provocar un sistema inestable, es por esto que en dinámica molecular los sistemas inician a temperaturas bajas y luego se calientan[26]. Se asignan velocidades correspondientes a una temperatura baja y posteriormente estas velocidades se reasignan gradualmente hasta alcanzar la temperatura deseada.



### 2.5.3. NAMD.

El NAMD es un programa de acceso libre que ejecuta simulaciones de Dinámica Molecular[27]. NAMD calcula las trayectorias de los átomos resolviendo las ecuaciones del movimiento de Newton usando campos de fuerzas empíricos. El campo de fuerzas utilizado por NAMD es el mismo que el del programa CHARMM; además es compatible con los campos de fuerzas AMBER entre ellos GAFF. Particularmente NAMD está diseñado para simulaciones de sistemas moleculares que contienen más de 100000 átomos. Debido a esto NAMD está optimizado para ejecutarse de forma eficiente en clusters computacionales.

Entre otras funciones NAMD es capaz de llevar a cabo minimizaciones y equilibraciones de sistemas moleculares. La minimización consiste en buscar un mínimo local en la superficie de energía potencial del sistema; variando sistemáticamente las posiciones de los átomos y calculando la energía. Esto mediante un proceso análogo al descrito en la sección 2.2, solo que esta vez la energía no es un valor propio del Hamiltoniano sino que está dada por la función del campo de fuerzas. La equilibración consiste en la simulación de dinámica molecular, se utilizan variantes mejoradas del algoritmo de Verlet para determinar las posiciones y velocidades de los átomos[28]. Durante el período de equilibración los términos de energía cinética, potencial, y la energía total del sistema convergen con fluctuaciones alrededor del valor medio.

## Capítulo 3

# Propiedades estructurales y electrostáticas.

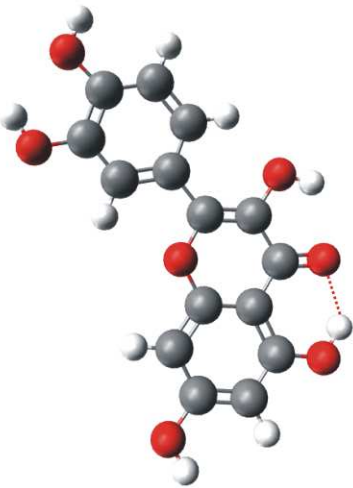
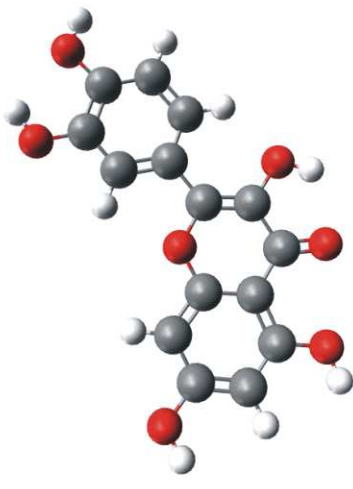


### 3.1. Geometrías de equilibrio.

Las coordenadas iniciales de los átomos de los flavonoides y de los ácidos cinámicos se tomaron de los archivos pdb[29] de las proteínas que los contienen. Los correspondientes códigos son: Quercetina: 2hck, Fisetina: 1xo2, ácido Cafeico: 3hof, ácido Ferúlico: 6atj, Genisteína: 1qkm y Floretina: 2uxi. Todas estas estructuras han sido obtenidas por difracción de rayos X, los átomos de hidrógeno que no se ubican mediante la técnica anotada se añadieron con la herramienta *Molefactory* de VMD[30]. Las orientaciones de los grupos hidroxilo se determinaron en base a los resultados de los análisis conformacionales realizados anteriormente para el ácido Cafeico[31] y la Floretina[32]. Para el resto de flavonoides las optimizaciones se calcularon con las orientaciones posibles de los grupos hidroxilo dentro de los planos de los anillos aromáticos, y se eligieron aquellas de menor energía. Las estructuras iniciales del agua y del oxígeno molecular quedaron establecidas en base a los modelos existentes en la biblioteca del programa Avogadro[33], el mismo que también fue utilizado para la creación de los archivos de entrada necesarios para los cálculos en GAMESS. Ver Anexo A.

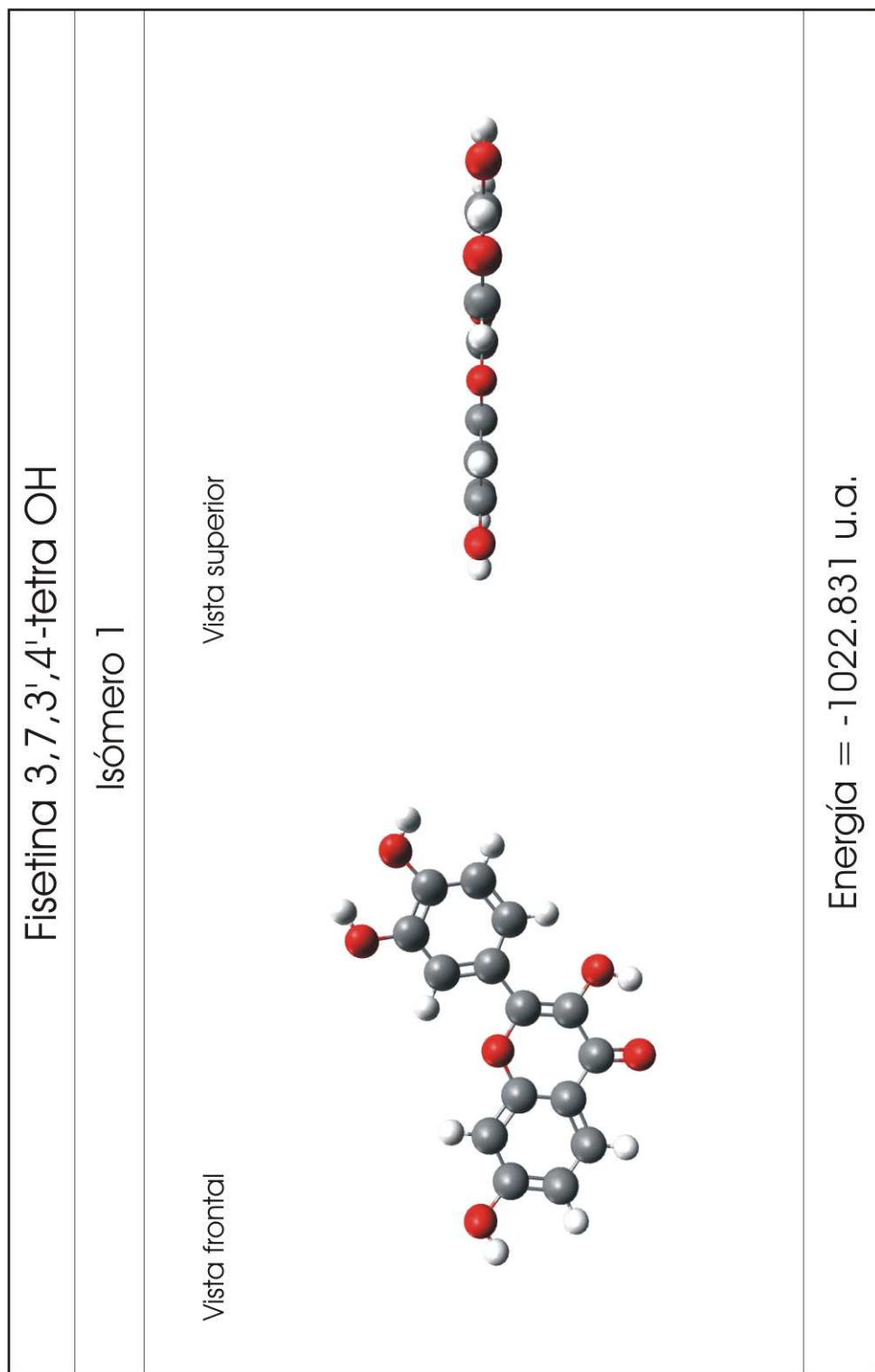
Las geometrías moleculares fueron optimizadas mediante cálculos *ab initio* utilizando el método de campo autoconsistente de Hartree-Fock. Las 8 moléculas estudiadas contienen un número par de electrones, es decir, son moléculas de capa cerrada y se pueden realizar cálculos de Hartree-Fock restringidos (RHF). El criterio de convergencia para completar las iteraciones en los cálculos Hartree-Fock

fue que el cambio en la matriz de densidad entre dos iteraciones sucesivas sea menor que  $1 \times 10^{-5}$ . Para cada molécula se realizaron optimizaciones de geometría utilizando conjuntos base de distinto tamaño. Se inicio con el conjunto base mínimo STO-3G, posteriormente las estructuras fueron reoptimizadas con el conjunto base doble zeta 6-31G y con el conjunto base triple zeta 6-311G.

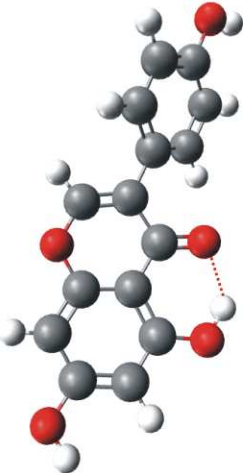
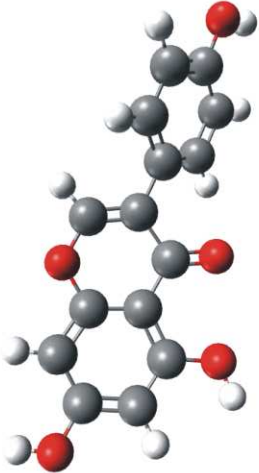
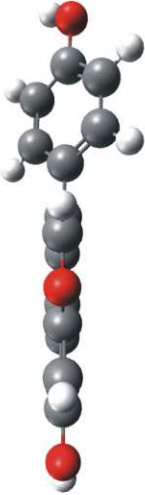
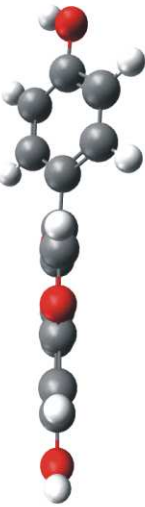
Las optimizaciones se realizaron utilizando el método de cuasi-Newton. El criterio de convergencia para completar la búsqueda de la geometría de equilibrio fue que el módulo del gradiente sea menor a 0,0001 u.a /Å. Se utilizaron coordenadas internas, y se incluyeron análisis vibracionales para verificar que las estructuras obtenidas correspondieran a mínimos en la superficie de energía potencial. Todos estos cálculos se llevaron a cabo con el programa GAMESS en un computador Pentium IV de 2.8 Ghz ejecutando el sistema operativo GNU/Linux. En el anexo A se incluye el modelo del archivo de entrada para la realización de las optimizaciones. Las geometrías de equilibrio obtenidas se presentan desde la Figura 3.1 hasta la Figura 3.7, cuyas leyendas indican las particularidades de cada molécula.

Quercetina 3,5,7,3',4'-penta OH	
Isómero 1	Isómero 2
Vista frontal 	Vista frontal 
Vista superior 	Vista superior 
Energía = -1097.688 u.a.	Energía = -1097.666 u.a.

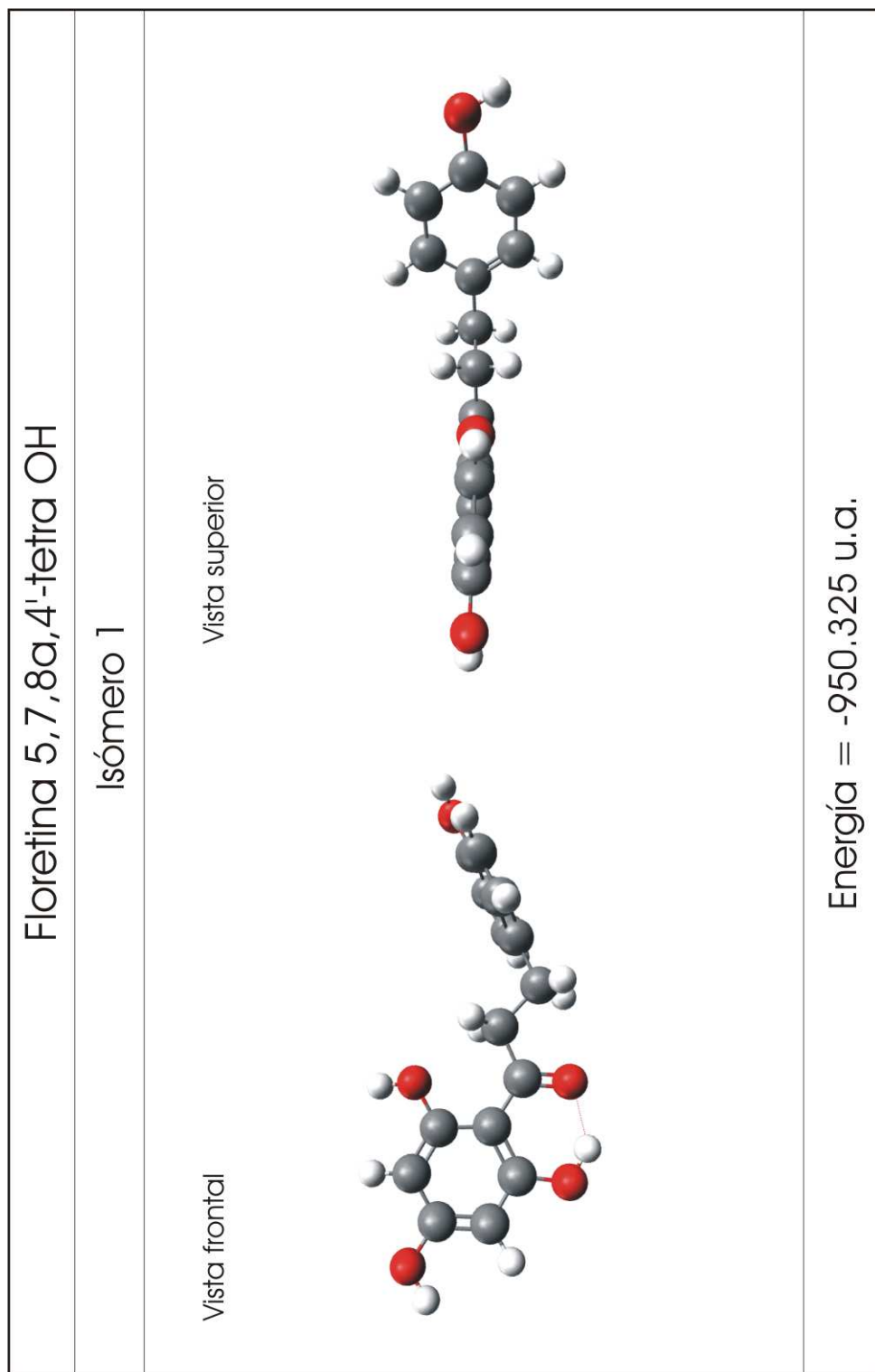
**Figura 3.1.** Geometrías de equilibrio de la Quercetina calculadas con el conjunto base 6-311G. Las dos geometrías se diferencian por la orientación del grupo 5-OH. Las líneas segmentadas en rojo representan enlaces hidrógeno. Las vistas superiores muestran que la Quercetina es plana. La estructura de menor energía corresponde al isómero 1. (1 u.a. = 1 Hartree = 627,509 kcal/mol)



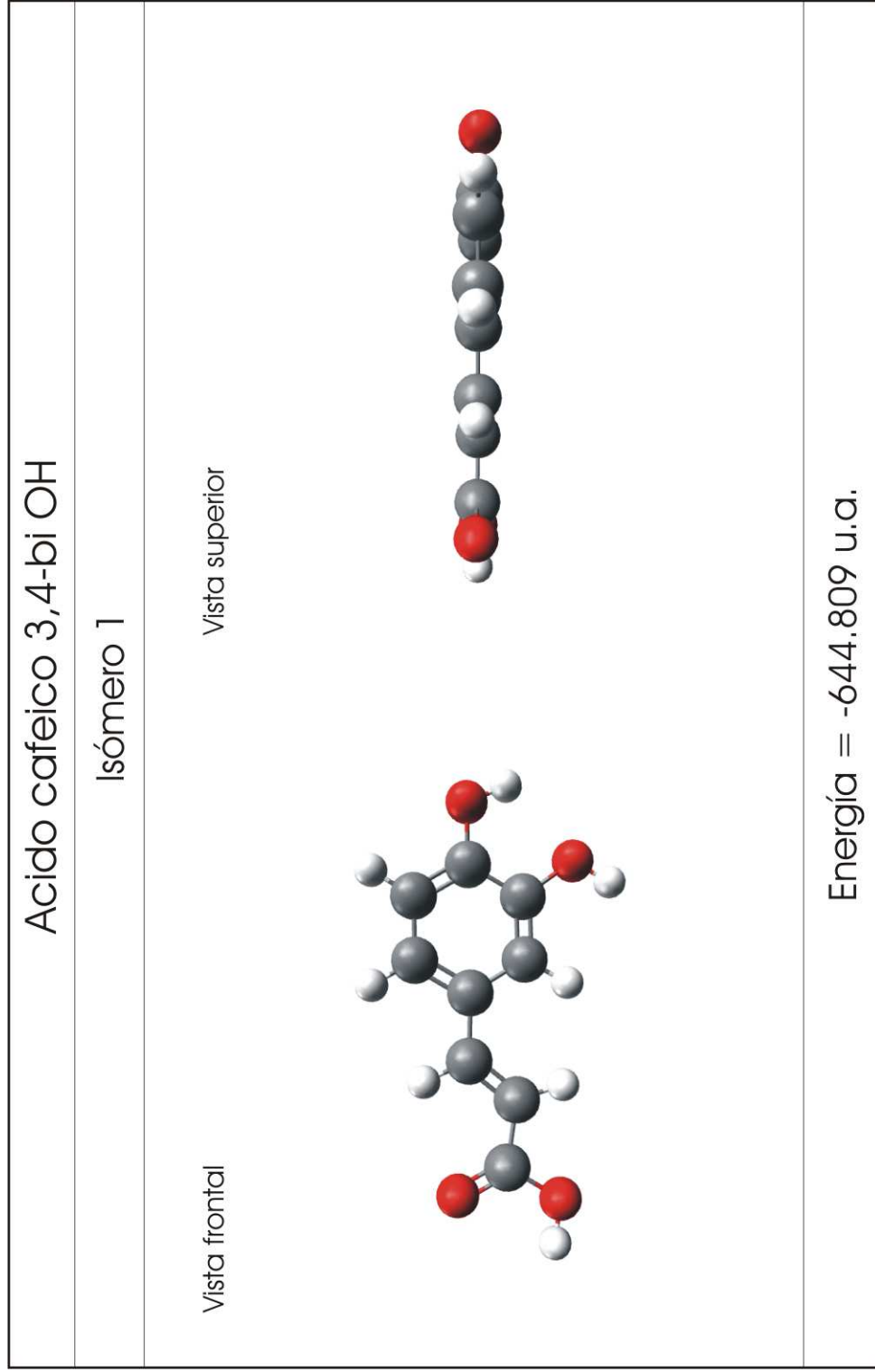
**Figura 3.2.** Geometría de equilibrio de la Fisetina calculada con el conjunto base 6-311G. La vista superior muestra que la Fisetina es plana.

Genisteína 5,7,4'-tri OH	
Isómero 1	Isómero 2
Vista frontal	Vista frontal
	
Vista superior	Vista superior
	
Energía = -947.987 u.a.	Energía = -947.964 u.a.

**Figura 3.3.** Geometrías de equilibrio de la Genisteína calculadas con el conjunto base 6-311G. Las dos geometrías se diferencian por la orientación de los grupos 5-OH y 7-OH. Las vistas superiores muestran que el anillo B no es coplanar a los anillos A y C. La estructura de menor energía corresponde al isómero 1.

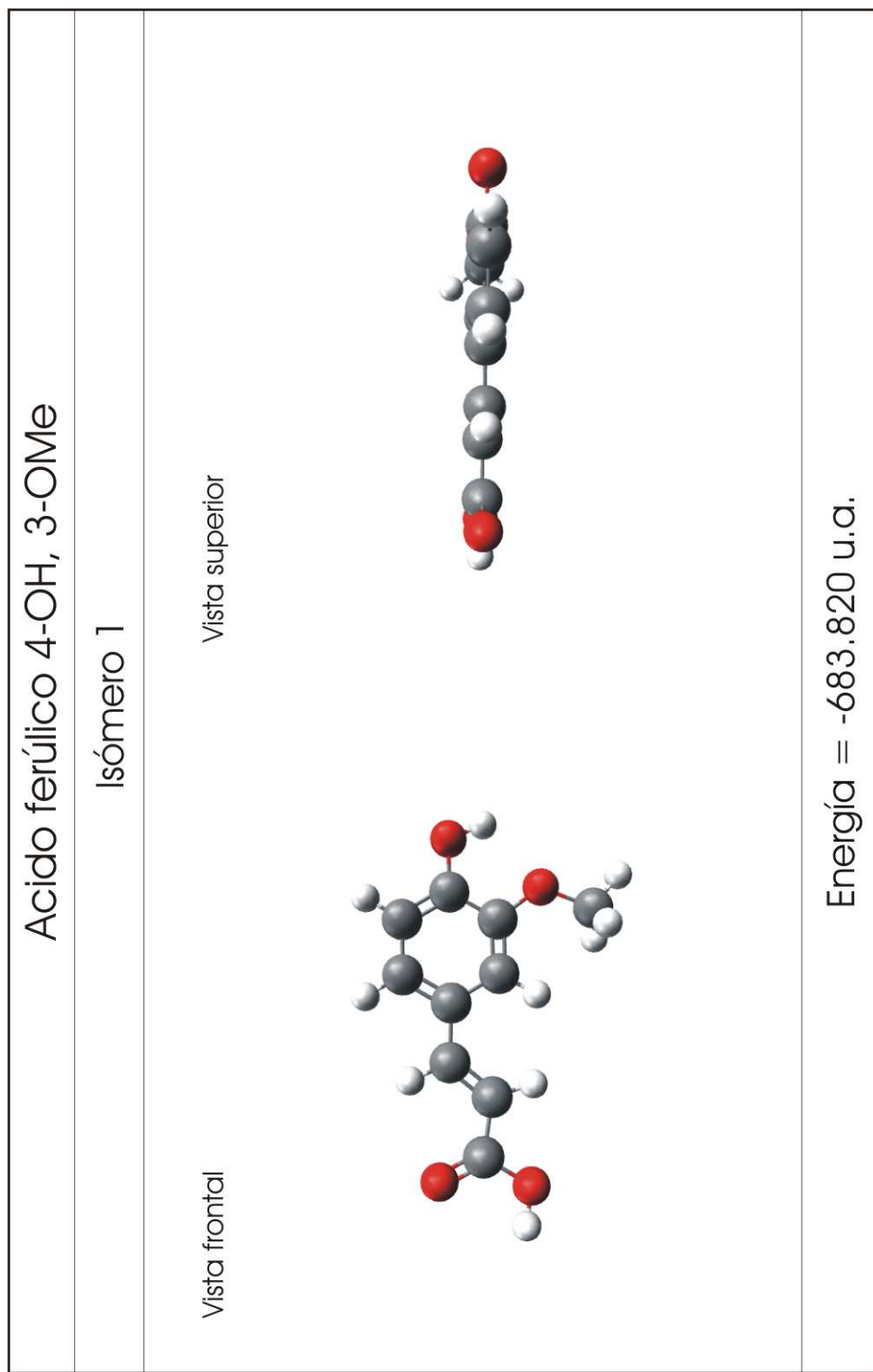


**Figura 3.4.** Geometría de equilibrio de la Floretina calculada con el conjunto base 6-311G. Nótese la normalidad de los planos de los anillos A y B.

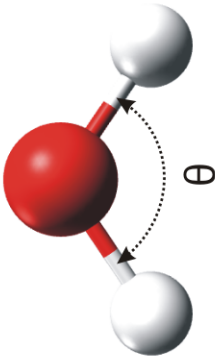




**Figura 3.5.** Geometría de equilibrio del ácido Cafeico calculada con el conjunto base 6-311G. La vista superior muestra que la molécula es plana.





**Figura 3.6.** Geometría de equilibrio del ácido Ferúlico calculada con el conjunto base 6-311G. La vista superior muestra que la molécula es plana.

Agua	Oxígeno Molecular
<p data-bbox="472 1697 501 1868">Vista frontal</p>  <p data-bbox="839 1682 868 1868">Vista superior</p> 	<p data-bbox="472 954 501 1124">Vista frontal</p> 
Energía = -76.017 u.a.	Energía = -149.512 u.a.

**Figura 3.7.** Geometrías de equilibrio del agua y del oxígeno molecular calculadas con el conjunto base 6-311G.

### 3.1.1. Análisis estructural comparativo.

#### 3.1.1.1. Quercetina.

La molécula está compuesta por el benzopirano con el anillo ortodifenólico B enlazado en la posición 2. Figura 3.1. Los parámetros estructurales de la Quercetina están resumidos en la Tabla 3.2. La región del benzopirano es plana. Con relación a la longitud de los enlaces presentes en la molécula se observan alargamientos de los enlaces simples C3-C4 de 144,7 pm y C4-C4a de 143,4 pm y un acortamiento del enlace doble C2=C3 de 133,9 pm. En esta región el menor ángulo de enlace es de 117,2° en C3-C4-C4a. Estas características concuerdan con estudios realizados en flavonas, tanto en fase gaseosa[34] como en sólidos cristalinos[35].

El ángulo entre el plano del benzopirano y el plano del anillo B está dado por el diedro O1-C2-C1'-C2' y es de 0,0°; es decir, la molécula es completamente plana. La longitud del enlace simple C2-C1' que une a los anillos B y C es de 146,7 pm; este parámetro es importante porque cuando el benzopirano y el anillo B no son coplanares la longitud de este enlace se incrementa[35]. La longitud del enlace doble C4=O3 es 124,9 pm y es más larga que el valor estándar para el grupo carbonilo (119,2 pm)[35]; este alargamiento se debe al enlace hidrógeno entre el O3 y el H del O4. Los grupos hidroxilo están en el plano de la molécula. Se observa un acortamiento del ángulo de enlace C3'-C4'-O7 a 115,2° debido a la atracción electrostática entre el O7 y el H en O6, la distancia O6-H...O7 es 2,22 Å

#### 3.1.1.2. Fisetina.

La estructura de la Fisetina es similar a la de la Quercetina excepto en que no hay hidroxilo en la posición 5. Figura 3.2. Los parámetros estructurales de la Fisetina están resumidos en la Tabla 3.2. La región del benzopirano es plana. Con relación a la longitud de los enlaces presentes en la molécula se observan alargamientos de los enlaces simples C3-C4 de 145,4 pm y C4-C4a de 144,7 pm y el acortamiento del enlace doble C2=C3 a 133,8 pm. El menor ángulo de enlace se da en C3-C4-C4a con 116,3°. Estas características estructurales concuerdan con aquellas de la Quercetina.

El ángulo diedro O1-C2-C1'-C2' es de 0,0°; es decir, la Fisetina también es completamente plana. La longitud del enlace que une al benzopirano con el anillo B es de 146,8 pm, igual al de la Quercetina por la planaridad de ambas moléculas. La

longitud del doble enlace  $C4=O3$  es 123,6 pm, y es más larga que el valor estándar del grupo carbonilo[35] pero es menor al de la Quercetina debido a que en la Fisetina no hay enlace hidrógeno en el  $O3$  por la ausencia del 5-OH. Los grupos hidroxilo están en el plano de la molécula. Al igual que en la Quercetina se observa un acortamiento del ángulo de enlace  $C3'-C4'-O7$  a  $115,3^\circ$  debido a la atracción electrostática entre el  $O7$  y el H en  $O6$ , la distancia  $O6-H...O7$  es 2,22 Å. Las diferencias en los ángulos de enlace entre la Fisetina y la Quercetina son menores al 1%. En las longitudes de enlace las diferencias entre estas dos moléculas son menores o iguales al 1,08%. Tabla 3.2.

### 3.1.1.3. Genisteína.

La molécula está constituida por el benzopirano y el anillo B monosustituido, enlazado en la posición 3. Figura 3.3. Los parámetros estructurales de la Genisteína están resumidos en las Tablas 3.3 y 3.4. Al igual que en las flavonas, con relación a la longitud de los enlaces presentes en la molécula, la iso-flavona Genisteína presenta alargamientos en la región del benzopirano en los enlaces simples  $C3-C4$  y  $C4-C4a$ , en este caso de 146,8 pm y 145,2 pm respectivamente. También existe similitud con el acortamiento del enlace doble  $C2=C3$  a 133,4 pm y del ángulo  $C3-C4-C4a$  a  $116,6^\circ$ . Con respecto a la Genisteína, la Quercetina y la Fisetina tienen el enlace  $O1-C2$  más largo en un 1,47% y 1,65% respectivamente, ver Tablas 3.3 y 3.4, esto debido a que en estas moléculas el anillo B está enlazado en la posición 2.

El benzopirano y el anillo B son planos; sin embargo, el ángulo diedro entre éstos planos  $C2-C3-C1'-C2'$  es de  $47,2^\circ$ . Se ha reportado que el incremento de este ángulo diedro produce un aumento en la longitud del enlace que une al anillo B y al benzopirano[35]. Esto justifica que el enlace simple  $C3-C1'$  de 148,4 pm sea aproximadamente un 1% más largo que su análogo  $C2-C1'$  en las flavonas que son planas. La longitud del enlace doble  $C4=O3$  es 124,1 pm y es más larga que el valor estándar del grupo carbonilo debido a la formación del enlace hidrógeno con el H del  $O4$ . En el benzopirano los grupos hidroxilo son coplanares. En el anillo B el grupo hidroxilo sale fuera del plano en  $1,66^\circ$ .

### 3.1.1.4. Floretina.

Dentro de los flavonoides la Floretina pertenece al grupo de las chalconas en las que el anillo C no está definido. Figura 3.4. Esto le otorga a la Floretina una gran

flexibilidad estructural. Los parámetros estructurales de la Floretina están tabulados en la Tabla 3.5. En nuestra estructura optimizada se pueden identificar dos regiones planas. La una corresponde al anillo A y sus grupos hidroxilo, que son coplanares a la cadena del polieno y al carbonilo, la otra región plana le corresponde al anillo B y a su hidroxilo.

Gómez-Zavaglia clasifica los isómeros de la Floretina mediante la definición de intervalos y valores para ocho ángulos diedro[32]. La Tabla 3.1 muestra los valores de estos ocho diedros correspondientes a nuestra estructura. Los resultados son aceptables considerando que los cálculos de Goméz-Zavaglia se hicieron con el nivel de teoría más sofisticado B3LYP/6-311++G(d,p). Con relación a la longitud de los enlaces presentes en la molécula, la estructura muestra alargamientos de los enlaces simples C2-C1', C2-C3, C3-C4, C4-C4a a 151,3, 153,3, 150,7, 147,5 pm respectivamente. La longitud del enlace doble C4=O3 es de 123,9 pm y es más larga que el valor estándar para el grupo carbonilo [35]debido a la formación del enlace hidrógeno entre O3 y el H de O4. En los datos de las Tabla 3.1 se puede apreciar la coplanaridad parcial de los grupos hidroxilo con los anillos A y B.

Ángulo diedro	Intervalo	Calculado
C6'-C1'-C2-C3	80 – 95°	90,87°
C1'-C2-C3-C4	180°	178,48°
C2-C3-C4-C4a	0, 180°	177,75°
C3-C4-C4a-C5	0, 180°	177,52°
C4a-C8a-O1-H	0, 180°	180,00°
C6-C7-O5-H	0, 180°	0,17°
C4a-C5-O4-H	0, 180°	0,72°
C5'-C4'-O7-H	0, 180°	1,43°

**Tabla 3.1.** Ángulos diedro cuyos valores identifican los diferentes isómeros de la Floretina. La columna de la derecha muestra los valores calculados con el conjunto base 6-311G presentados con 2 decimales. La estructura de equilibrio de la Floretina puede ser descrita como dos regiones planas que forman un ángulo diedro (C6'-C1'-C2-C3) aproximadamente recto

La Tabla 3.5 presenta una comparación entre los parámetros estructurales de la Floretina y de la Quercetina. La Quercetina es plana mientras que en la Floretina los planos de los anillos A y B forman un ángulo de 90,9°. En las regiones moleculares donde es posible una comparación, las diferencias en las longitudes de enlace son menores al 4,12%. Esto descartando la diferencia de 14,49% en el enlace C2-C3, porque en la Quercetina se trata de un enlace doble y en la Floretina es un enlace simple. En los ángulos de enlace se destaca una diferencia del 13,75% en el ángulo de enlace C3-C2-C1', esta diferencia se atribuye a la ausencia del enlace

doble C2=C3. Existe también una diferencia de 7,54 % en el ángulo de enlace C2-C3-C4, este ángulo es mayor en la Floretina y se explica por la ausencia del enlace O1-C2 que define al anillo C.

#### 3.1.1.5. Ácidos Cafeico y Ferúlico.

Anteriormente VanBesien *et. al.* realizaron un estudio conformacional *ab initio* B3LYP/6-31G\*\* para el ácido Cafeico[31]. En él se reporta que las conformaciones más estables corresponden a estructuras planas, donde los grupos hidroxilo en el anillo fenólico apuntan en la misma dirección. Figura 3.5. La estructura calculada en el presente trabajo tiene estas características y hay buena correspondencia con los demás parámetros geométricos. Los parámetros estructurales de los ácidos Cafeico y Ferúlico están tabulados en la Tabla 3.6. Con respecto al estudio de VanBesien las estructuras calculadas de los ácidos Cafeico y Ferúlico presentan longitudes de enlace más cortas hasta en un 1,5 %, ver Tabla 3.5, esto es normal al comparar los métodos Hartree-Fock y de la Teoría de Funcional de Densidad Electrónica[16]. En los ángulos de enlace las diferencias son menores al 1 %. Tabla 3.6. No hay diferencias significativas en los ángulos diedro.

Al comparar las estructuras de los ácidos Cafeico y Ferúlico de nuestro estudio se observan diferencias menores al 0,40 % en las longitudes de enlace y 0,70 % en los ángulos de enlace. Para las dos moléculas la longitud del enlace C $\beta$ '-O1 es 121,6 pm y es el valor más próximo al valor estándar del grupo carbonilo de entre los valores calculados en las otras moléculas. Las desviaciones de la planaridad de los hidroxilos y metoxi son menores a 0,5°. En ambas moléculas hay evidencia de interacción electrostática entre el H del O3 y el O4 ya que el ángulo de enlace C4-C3-O4 muestra un acortamiento. Las distancias O3-H...O4 son 2,20 y 2,17 Å para los ácidos Cafeico y Ferúlico respectivamente. Esta distancia reportada por VanBesien para el ácido Cafeico es de 2,11 Å.

Longitud de enlace pm.				Ángulo de enlace				Ángulo diedro			
Enlace	Que	Fis	Dif (%)	Ángulo	Que	Fis	Dif (%)	Diedro	Que	Fis	Dif
O1-C2	137,9	138,2	-0,178	O1-C2-C3	118,4	118,6	-0,14	O1-C2-C3-C4	0,0	0,0	0,0
C2-C3	133,9	133,8	0,085	C2-C3-C4	122,0	122,5	-0,41	C2-C3-C4-C4a	0,0	0,0	0,0
C3-C4	144,7	145,4	-0,483	C3-C4-C4a	117,2	116,3	0,78	C3-C4-C4a-C5	-180,0	-180,0	0,0
C4-C4a	143,4	144,7	-0,902	C4-C4a-C8a	119,1	119,0	0,07	C4-C4a-C5-C6	-180,0	-180,0	0,0
C4a-C5	140,7	139,7	0,720	C4a-C8a-O1	119,4	120,5	-0,90	C4a-C5-C6-C7	0,0	0,0	0,0
C5-C6	137,7	137,2	0,348	C8a-O1-C2	123,8	123,1	0,60	C5-C6-C7-C8	0,0	0,0	0,0
C6-C7	139,1	140,0	-0,673	C4a-C5-C6	120,3	120,5	-0,20	C6-C7-C8-C8a	0,0	0,0	0,0
C7-C8	138,5	137,6	0,594	C5-C6-C7	119,4	119,4	-0,03	C7-C8-C8a-O1	-180,0	-180,0	0,0
C8-C8a	137,6	138,4	-0,585	C6-C7-C8	122,1	121,4	0,61	C8-C8a-O1-C2	180,0	180,0	0,0
C8a-O1	136,2	136,2	-0,045	C7-C8-C8a	117,4	118,1	-0,56	C8a-O1-C2-C3	0,0	0,0	0,0
C8a-C4a	139,6	138,8	0,555	C8-C8a-C4a	122,7	122,0	0,58	O1-C2-C1'-C2'	0,0	0,0	0,0
C2-C1'	146,7	146,8	-0,084	C8a-C4a-C5	118,1	118,6	-0,44	C3-C2-C1'-C6'	0,0	0,0	0,0
C1'-C2'	139,9	139,9	0,015	C3-C2-C1'	129,5	129,5	0,01	C6'-C1'-C2'-C3'	0,0	0,0	0,0
C2'-C3'	137,3	137,3	-0,023	C2-C1'-C6'	121,9	122,0	-0,06	C1'-C2'-C3'-C4'	0,0	0,0	0,0
C3'-C4'	138,5	138,5	0,035	C1'-C2'-C3'	120,4	120,5	-0,05	C2'-C3'-C4'-C5'	0,0	0,0	0,0
C4'-C5'	137,7	137,7	0,012	C2'-C3'-C4'	120,0	120,1	-0,04	C3'-C4'-C5'-C6'	0,0	0,0	0,0
C5'-C6'	138,6	138,6	-0,011	C3'-C4'-C5'	120,3	120,2	0,07	C4'-C5'-C6'-C1'	0,0	0,0	0,0
C6'-C1'	139,4	139,4	-0,003	C4'-C5'-C6'	120,1	120,2	-0,04	C5'-C6'-C1'-C2'	0,0	0,0	0,0
C3-O2	137,1	137,1	-0,014	C5'-C6'-C1'	120,0	120,0	0,00	O1-C2-C3-O2	180,0	180,0	0,0
C4-O3	124,9	123,6	1,076	C6'-C1'-C2'	119,1	119,0	0,07	C2-C3-C4-O3	-180,0	-180,0	0,0
C5-O4	134,9	-	-	C4-C3-O2	115,4	115,0	0,36	C8a-C4a-C5-O4	-180,0	-	-
C7-O5	136,1	136,6	-0,320	C3-C4-O3	119,0	119,2	-0,18	C5-C6-C7-O5	180,0	180,0	0,0
C3'-O6	137,1	137,2	-0,044	C6-C5-O4	118,1	-	-	C1'-C2'-C3'-O6	180,0	180,0	0,0
C4'-O7	137,9	138,0	-0,077	C8-C7-O5	116,5	116,9	-0,34	C6'-C5'-C4'-O7	180,0	180,0	0,0
				C4'-C3'-O6	120,7	120,7	0,02				
				C3'-C4'-O7	115,2	115,3	-0,07				

Tabla 3.2. Comparación de los parámetros estructurales de la Quercetina y Fisetina

Enlace	Longitud de enlace pm.			Ángulo de enlace			Ángulo diedro				
	Que	Gen	Dif (%)	Ángulo	Que	Gen	Dif (%)	Diedro	Que	Gen	Dif
O1-C2	137,9	135,9	1,47	O1-C2-C3	118,4	124,5	-5,12	O1-C2-C3-C4	0,0	2,1	-2,1
C2-C3	133,9	133,4	0,39	C2-C3-C4	122,0	118,1	3,21	C2-C3-C4-C4a	0,0	-3,2	3,2
C3-C4	144,7	146,8	-1,41	C3-C4-C4a	117,2	116,6	0,48	C3-C4-C4a-C5	-180,0	-177,7	-2,3
C4-C4a	143,4	145,2	-1,26	C4-C4a-C8a	119,1	120,5	-1,18	C4-C4a-C5-C6	-180,0	-179,8	-0,2
C4a-C5	140,7	140,9	-0,10	C4a-C8a-O1	119,4	119,2	0,22	C4a-C5-C6-C7	0,0	0,0	0,0
C5-C6	137,7	138,0	-0,19	C8a-O1-C2	123,8	121,1	2,23	C5-C6-C7-C8	0,0	-0,1	0,1
C6-C7	139,1	138,8	0,23	C4a-C5-C6	120,3	120,6	-0,25	C6-C7-C8-C8a	0,0	0,0	0,0
C7-C8	138,5	138,5	0,00	C5-C6-C7	119,4	119,6	-0,18	C7-C8-C8a-O1	-180,0	-180,0	0,0
C8-C8a	137,6	137,4	0,11	C6-C7-C8	122,1	121,8	0,27	C8-C8a-O1-C2	180,0	178,9	1,1
C8a-O1	136,2	136,8	-0,44	C7-C8-C8a	117,4	117,4	0,01	C8a-O1-C2-C3	0,0	0,2	-0,2
C8a-C4a	139,6	139,6	-0,04	C8-C8a-C4a	122,7	123,4	-0,56	O1-C2-C1'-C2'	0,0	-	-
C2-C1'/C3-C1'	146,7	148,4	-1,17	C8a-C4a-C5	118,1	117,2	0,73	C3-C2-C1'-C6'	0,0	-	-
C1'-C2'	139,9	139,5	0,29	C4-C3-C1'	-	121,1	-	C2-C3-C1'-C2'	-	47,2	-
C2'-C3'	137,3	138,3	-0,71	C3-C1'-C6'	-	121,5	-	C4-C3-C1'-C6'	-	48,7	-
C3'-C4'	138,5	138,3	0,20	C1'-C2'-C3'	120,4	121,4	-0,82	C6'-C1'-C2'-C3'	0,0	1,1	-1,1
C4'-C5'	137,7	138,4	-0,50	C2'-C3'-C4'	120,0	119,4	0,51	C1'-C2'-C3'-C4'	0,0	-0,6	0,6
C5'-C6'	138,6	138,4	0,13	C3'-C4'-C5'	120,3	120,3	0,02	C2'-C3'-C4'-C5'	0,0	-0,1	0,1
C6'-C1'	139,4	139,2	0,19	C4'-C5'-C6'	120,1	119,9	0,22	C3'-C4'-C5'-C6'	0,0	0,3	-0,3
C3-O2	137,1	0,0	-	C5'-C6'-C1'	120,0	120,9	-0,76	C4'-C5'-C6'-C1'	0,0	0,3	-0,3
C4-O3	124,9	124,1	0,67	C6'-C1'-C2'	119,1	118,1	0,85	C5'-C6'-C1'-C2'	0,0	-1,0	1,0
C5-O4	134,9	134,9	0,02	C3-C4-O3	119,0	122,1	-2,58	C2-C3-C4-O3	180,0	176,2	3,8
C7-O5	136,1	136,3	-0,08	C6-C5-O4	118,1	117,4	0,61	C8a-C4a-C5-O4	-180,0	-179,7	-0,3
C3'-O6	137,1	0,0	-	C8-C7-O5	116,5	116,6	-0,10	C5-C6-C7-O5	180,0	179,9	0,1
C4'-O7	137,9	137,5	0,29	C3'-C4'-O7	115,2	117,2	-1,70	C6'-C5'-C4'-O7	0,0	1,66	1,66

**Tabla 3.3.** Comparación de los parámetros estructurales de Quercetina y Genisteína. El enlace que une al anillo C y al anillo B de la Genisteína C3-C1' es más largo que el correspondiente enlace en la Quercetina C2-C1'; esto se debe a la torsión (diedro C2-C3-C1'-C2') presente entre los planos de los anillos C y B de la Genisteína.



Enlace	Longitud de enlace pm.			Ángulo de enlace			Ángulo diedro				
	Fis	Gen	Dif (%)	Ángulo	Fis	Gen	Dif (%)	Diedro	Fis	Gen	Dif
O1-C2	138,2	135,9	1,65	O1-C2-C3	118,6	124,5	-4,97	O1-C2-C3-C4	0,0	2,1	-2,10
C2-C3	133,8	133,4	0,30	C2-C3-C4	122,5	118,1	3,60	C2-C3-C4-C4a	0,0	-3,2	3,20
C3-C4	145,4	146,8	-0,92	C3-C4-C4a	116,3	116,6	-0,30	C3-C4-C4a-C5	-180,0	-177,7	-2,30
C4-C4a	144,7	145,2	-0,35	C4-C4a-C8a	119,0	120,5	-1,26	C4-C4a-C5-C6	-180,0	-179,8	-0,20
C4a-C5	139,7	140,9	-0,83	C4a-C8a-O1	120,5	119,2	1,11	C4a-C5-C6-C7	0,0	0,0	0,00
C5-C6	137,2	138,0	-0,54	C8a-O1-C2	123,1	121,1	1,64	C5-C6-C7-C8	0,0	-0,1	0,10
C6-C7	140,0	138,8	0,89	C4a-C5-C6	120,5	120,6	-0,05	C6-C7-C8-C8a	0,0	0,0	0,00
C7-C8	137,6	138,5	-0,60	C5-C6-C7	119,4	119,6	-0,15	C7-C8-C8a-O1	-180,0	-180,0	0,00
C8-C8a	138,4	137,4	0,69	C6-C7-C8	121,4	121,8	-0,35	C8-C8a-O1-C2	180,0	178,9	1,10
C8a-O1	136,2	136,8	-0,39	C7-C8-C8a	118,1	117,4	0,57	C8a-O1-C2-C3	0,0	0,2	-0,20
C8a-C4a	138,8	139,6	-0,60	C8-C8a-C4a	122,0	123,4	-1,14	O1-C2-C1'-C2'	0,0	-	-
C2-C1'/C3-C1'	146,8	148,4	-1,09	C8a-C4a-C5	118,6	117,2	1,16	C3-C2-C1'-C6'	0,0	-	-
C1'-C2'	139,9	139,5	0,27	C4-C3-C1'	-	121,1	-	C2-C3-C1'-C2'	-	47,2	-
C2'-C3'	137,3	138,3	-0,68	C3-C1'-C6'	-	121,5	-	C4-C3-C1'-C6'	-	48,7	-
C3'-C4'	138,5	138,3	0,17	C1'-C2'-C3'	120,5	121,4	-0,77	C6'-C1'-C2'-C3'	0,0	1,1	-1,10
C4'-C5'	137,7	138,4	-0,51	C2'-C3'-C4'	120,1	119,4	0,56	C1'-C2'-C3'-C4'	0,0	-0,6	0,60
C5'-C6'	138,6	138,4	0,14	C3'-C4'-C5'	120,2	120,3	-0,05	C2'-C3'-C4'-C5'	0,0	-0,1	0,10
C6'-C1'	139,4	139,2	0,20	C4'-C5'-C6'	120,2	119,9	0,26	C3'-C4'-C5'-C6'	0,0	0,3	-0,30
C3-O2	137,1	0,0	-	C5'-C6'-C1'	120,0	120,9	-0,76	C4'-C5'-C6'-C1'	0,0	0,3	-0,30
C4-O3	123,6	124,1	-0,41	C6'-C1'-C2'	119,0	118,1	0,78	C5'-C6'-C1'-C2'	0,0	-1,0	1,00
C5-O4	-	134,9	-	C3-C4-O3	119,2	122,1	-2,40	C2-C3-C4-O3	180,0	176,2	3,80
C7-O5	136,6	136,3	0,24	C6-C5-O4	-	117,4	-	C8a-C4a-C5-O4	-	-179,7	-
C3'-O6	137,2	0,0	-	C8-C7-O5	116,9	116,6	0,25	C5-C6-C7-O5	180,0	179,9	0,10
C4'-O7	138,0	137,5	0,37	C3'-C4'-O7	115,3	117,2	-1,62	C6'-C5'-C4'-O7	0,0	1,66	1,66

**Tabla 3.4.** Comparación de los parámetros estructurales de la Fisetina y Genisteína

Enlace	Longitud de enlace pm.			Ángulo de enlace			Ángulo diedro				
	Flo	Que	Dif (%)	Ángulo	Flo	Que	Dif (%)	Diedro	Flo	Que	Dif
C4a-C5	141,5	140,7	-0,57	C4a-C5-C6	121,9	120,3	-1,36	C4-C4a-C5-C6	-179,4	-180,0	-0,6
C5-C6	138,8	137,7	-0,77	C5-C6-C7	119,4	119,4	-0,03	C4a-C5-C6-C7	-0,2	0,0	0,2
C6-C7	137,5	139,1	1,14	C6-C7-C8	121,0	122,1	0,94	C5-C6-C7-C8	0,0	0,0	0,0
C7-C8	138,8	138,5	-0,22	C7-C8-C8a	119,1	117,4	-1,42	C6-C7-C8-C8a	0,1	0,0	-0,1
C8-C8a	137,5	137,6	0,05	C8-C8a-C4a	122,7	122,7	0,01	C7-C8-C8a-C4a	0,1	0,0	-0,1
C8a-C4a	141,0	139,6	-1,03	C8a-C4a-C5	115,8	118,1	1,94	C8-C8a-C4a-C5	-0,3	0,0	0,3
C2-C1'	151,3	146,7	-3,14	C4-C4a-C8a	124,6	119,1	-4,63	C3-C4-C4a-C5	177,5	180,0	2,5
C2-C3	153,3	133,9	-14,49	C3-C4-C4a	123,2	117,2	-5,11	C3-C4-C4a-C8a	-2,2	0,0	2,2
C3-C4	150,7	144,7	-4,12	C2-C3-C4	112,8	122,0	7,54	C2-C3-C4-C4a	-177,7	-180,0	-2,3
C4-C4a	147,5	143,4	-2,83	C3-C2-C1'	111,7	129,5	13,75	C4-C3-C2-C1'	178,5	180,0	1,5
C1'-C2'	139,5	139,9	0,28	C2-C1'-C6'	121,3	121,9	0,51	C3-C2-C1'-C6'	90,9	0,0	-90,9
C2'-C3'	138,3	137,3	-0,70	C1'-C2'-C3'	121,6	120,4	-0,97	C3-C2-C1'-C2'	-88,4	0,0	88,4
C3'-C4'	138,4	138,5	0,09	C2'-C3'-C4'	119,5	120,0	0,46	C6'-C1'-C2'-C3'	-0,3	0,0	0,3
C4'-C5'	138,2	137,7	-0,31	C3'-C4'-C5'	120,2	120,3	0,07	C1'-C2'-C3'-C4'	0,1	0,0	-0,1
C5'-C6'	138,9	138,6	-0,19	C4'-C5'-C6'	119,6	120,1	0,46	C2'-C3'-C4'-C5'	0,1	0,0	-0,1
C6'-C1'	138,9	139,4	0,41	C5'-C6'-C1'	121,4	120,0	-1,16	C3'-C4'-C5'-C6'	0,0	0,0	0,0
C8a-O1	136,6	136,2	-0,34	C6'-C1'-C2'	117,6	119,1	1,24	C4'-C5'-C6'-C1'	-0,2	0,0	0,2
C4-O3	123,9	124,9	0,82	C4a-C8a-O1	118,1	119,4	1,11	C5'-C6'-C1'-C2'	0,3	0,0	-0,3
C5-O4	134,7	134,9	0,19	C3-C4-O3	118,1	119,0	0,74	C7-C8-C8a-O1	-179,7	-180,0	-0,3
C7-O5	136,2	136,1	-0,04	C6-C5-O4	114,9	118,1	2,70	C2-C3-C4-O3	1,8	0,0	-1,8
C4'-O7	137,9	137,9	-0,03	C8-C7-O5	116,5	116,5	0,00	C8a-C4a-C5-O4	-179,8	-180,0	-0,2
				C3'-C4'-O7	117,1	115,2	-1,63	C5-C6-C7-O5	-179,9	-180,0	-0,1
								C6'-C5'-C4'-O7	-179,8	-180,0	-0,2

**Tabla 3.5.** Comparación de los parámetros estructurales de la Floretina y Quercetina.

Longitud de enlace pm.									
Enlace	Ferúlico		Cafeico		Cafeico VanBesien[31]	Dif Caf. - Caf. (%)		Dif Caf. - Fer. (%)	
	Soria		Soria			VanBesien-Soria	VanBesien-Soria	Soria - Soria	Soria - Soria
C1-C2	140,3	140,1	140,1	141,3	0,86	0,67	0,18	0,18	
C2-C3	137,2	137,1	137,1	138,3	0,89	0,82	0,07	0,07	
C3-C4	139,6	139,1	139,1	141,2	1,50	1,15	0,35	0,35	
C4-C5	137,4	137,6	137,6	139,2	1,18	1,33	-0,15	-0,15	
C5-C6	138,9	138,8	138,8	139,3	0,38	0,28	0,10	0,10	
C6-C1	138,9	139,1	139,1	140,5	1,01	1,15	-0,15	-0,15	
C1-C $\beta$	146,5	146,5	146,5	145,6	-0,62	-0,59	-0,03	-0,03	
C $\beta$ -C $\alpha$	133,1	133,1	133,1	134,8	1,26	1,23	0,04	0,04	
C $\alpha$ -C $\beta'$	145,7	145,8	145,8	147,0	0,81	0,86	-0,04	-0,04	
C $\beta'$ -O1	121,6	121,6	121,6	121,8	0,19	0,16	0,03	0,03	
C $\beta'$ -O2	135,2	135,1	135,1	136,2	0,78	0,74	0,03	0,03	
C3-O4	137,9	138,3	138,3	137,5	0,58	0,29	-0,30	-0,30	
O4-C7	142,9	-	-	-	-	-	-	-	
C4-O3	136,4	136,4	136,4	135,6	0,59	0,59	-0,01	-0,01	

**Tabla 3.6.** Comparación de las longitudes de enlace de los ácidos Cafeico y Ferúlico.

Ángulo	Ángulo de enlace				Ángulo diedro				
	Fer. Soria	Caf. Soria	Dif Caf. - Caf. (%) VanBesien - Soria	Dif Caf. - Fer. (%) VanBesien - Soria	Dif Caf. - Fer. (%) Soria - Soria	Diedro	Fer. Soria	Caf. Soria	Dif.
C6-C1-C2	118,5	118,3	-	-	0,17	C1-C2-C3-C4	0,0	0,0	0,0
C1-C2-C3	120,2	120,2	-	-	0,00	C2-C3-C4-C5	0,0	0,0	0,0
C2-C3-C4	120,5	121,0	-	-	-0,41	C3-C4-C5-C6	0,0	0,0	0,0
C3-C4-C5	119,9	119,5	-	-	0,33	C4-C5-C6-C1	0,0	0,0	0,0
C4-C5-C6	119,7	119,8	-	-	-0,08	C5-C6-C1-C2	0,0	0,0	0,0
C5-C6-C1	121,1	121,2	-	-	-0,08	C6-C1-C2-C3	0,0	0,0	0,0
Cβ-C1-C2	122,6	122,9	-	-0,01	-0,24	Cα-Cβ-C1-C2	-0,2	0,0	-0,2
Cα-Cβ-C1	127,4	127,3	128,2	0,32	0,08	Cβ'-Cα-Cβ-C1	180,0	180,0	0,0
Cβ'-Cα-Cβ	123,5	123,4	120,0	-0,43	-0,44	O1-Cβ'-Cα-Cβ	180,0	180,0	0,0
Cα-Cβ'-O1	124,3	124,3	-	-	0,00	O2-Cβ'-Cα-Cβ	0,0	0,0	0,0
Cα-Cβ'-O2	114,8	114,8	111,5	-0,64	-0,66	O3-C4-C5-C6	180,0	180,0	0,0
C3-C4-O3	120,2	120,6	-	-	-0,33	C1-C2-C3-O4	180,0	180,0	0,0
C4-C3-O4	113,8	114,5	114,4	-0,12	0,56	C2-C3-O4-C7	-0,6	-	-
C3-O4-C7	121,3	-	121,9	0,67	0,74	-	-	-	-

**Tabla 3.7.** Comparación de los ángulos de enlace y diedros de los ácidos Cafeico y Ferúlico. VanBesien no proporciona todos los ángulos de enlace.

### 3.1.1.6. Agua y Oxígeno Molecular.

	Conjunto base	$\theta$ (H-O-H)	$R_{O-H}$ (Å)	Energía (u.a.)	Dipolo (Debyes)
Szabo[17]	STO-3G	100,0	0,990	-74,963	1,29
	4-31G	111,2	0,951	-75,907	2,61
	6-31G*	105,5	0,948	-76,011	2,23
	6-31G**	106,0	0,943	-76,023	2,19
Soria	6-311G	111,9	0,945	-76,011	2,49
Soria	6-311G**			-76,046	2,04
Valores experimentales[17]					
		104,5	0,958	-76,480	1,85

**Tabla 3.8.** Parámetros estructurales, energía y momento dipolar del agua.

	Conjunto base	$R_{O-O}$ (Å)	Energía (u.a.)
Soria	6-311G	1,193	-149,512
Soria	6-311G**		-149,573
Valores experimentales[16]			
		1,210	

**Tabla 3.9.** Parámetros estructurales y energía del oxígeno molecular.

En general, en los cálculos de longitudes de enlace con el método de Hartree-Fock el error entre los resultados obtenidos con la base mínima STO-3G y el valor experimental está entre 0,026 y 0,053 Å [17]. Este es el peor caso de la franja de error esperada en nuestros cálculos de longitudes de enlace. Siguiendo la metodología para la optimización de la geometría de los flavonoides se optimizó la geometría del agua y del oxígeno molecular. Tablas 3.8 y 3.9. Para el caso del agua en la Tabla 3.8 se observa que con excepción de la base mínima, los cálculos de Hartree-Fock arrojan longitudes de enlace más cortas que el valor experimental. La diferencia entre el resultado del conjunto base triple zeta 6-311G y el valor experimental es de 0.013 Å para el agua y 0.014 Å para el oxígeno molecular. Es decir, la metodología utilizada asegura que el error en las longitudes de enlace calculadas en el presente trabajo está dentro de los límites establecidos.

En la Tabla 3.8 se puede observar que los ángulos de enlace calculados con los conjuntos base doble zeta y triple zeta no son buenos. En contraste, en los casos en los que se añadieron funciones de polarización la diferencia es de apenas 1° o 1,5°. Esto sugiere que para obtener geometrías de equilibrio con ángulos de enlace cercanos a los valores experimentales se deberían añadir funciones de polarización

al conjunto base. A pesar de que esto incrementaría considerablemente el tiempo de cálculo si no se dispone de un clúster computacional.

Con respecto a los momentos dipolares, en la Tabla 3.8 se observa que la base STO-3G calcula dipolos menores a los valores experimentales. Los conjuntos base doble zeta con funciones de polarización presentan errores más pequeños que el conjunto base triple zeta sin funciones de polarización. La mejor aproximación para el momento dipolar del agua se consigue con el conjunto base 6-311G\*\*.

## 3.2. Propiedades electrostáticas.

### 3.2.1. Análisis comparativo del Potencial Electrostático Molecular.

El Potencial Electrostático Molecular MEP fue calculado en GAMESS en el nivel de teoría RHF/6-311G\*\*. Para la representación del MEP en las superficies moleculares de Van der Waals es necesario calcular la densidad electrónica. En el Anexo B se muestra el archivo de entrada para que GAMESS lleve a cabo estos cálculos. La opción CUBE permite obtener los archivos con datos volumétricos la densidad electrónica y el MEP en el formato del programa Gaussian. Estos archivos fueron utilizados para crear las representaciones del MEP utilizando VMD. Anexo C. El tamaño de estos cubos y su densidad de puntos son los utilizados por diseño en GAMESS. La superficie molecular de Van der Waals es equivalente a una isosuperficie de densidad electrónica con un valor de  $0,002 \frac{e}{a_0^3}$  donde  $a_0$  es el radio de Bohr[36]. Los gráficos de los MEP en dos dimensiones se realizaron con el programa Macmolplt[37].

En las ecuaciones (1.7) y (1.8) se muestran los pasos que sigue un flavonoide al interactuar con el radical OH. La primera indica el proceso por el cual se arranca un núcleo de H de uno de los grupos Hidroxilo y en la segundo se arranca un electrón del flavonoide. Debido a esto es importante conocer las regiones moleculares favorables para que se den este tipo de interacciones. Para el primer caso se debe determinar que Hidrógenos son accesibles para la interacción con los radicales y en el segundo caso determinar las regiones donde el MEP es mínimo ya que estas son atractivas para las especies electrofílicas (radicales libres). Esta información se obtendrá de los mapas del potencial electrostático molecular.

En los gráficos de los MEPs, Figuras 3.8 a 3.12, se observa que todas las moléculas presentan regiones de potencial negativo (atracción a cargas positivas) sobre y bajo el plano del anillo B, alrededor de todos los átomos de oxígeno y sobre algunos carbonos. Las regiones rojas indican alta población de electrones, en el caso del anillo B esta se debe a la deslocalización electrónica. La alta electronegatividad del Oxígeno explica las regiones rojas intensas alrededor de estos átomos. A pesar de que en el anillo A existe también deslocalización electrónica esta no es tan evidente en los gráficos del MEP, como lo es en el anillo B. Los resultados sugieren que el anillo central influye en la deslocalización electrónica del anillo A.

Con respecto a la Quercetina, Figura 3.8, el potencial mínimo tiene un valor de  $-0,0396$  u.a. Las regiones con este potencial se localizan principalmente alrededor de los Oxígenos de 5-OH, 7-OH, 3'-OH y el Oxígeno del carbonilo. En los carbonos se observan pequeñas regiones rojas alrededor de C6, C8 y del enlace doble C2=C3. Se observa que los Hidrógenos de los grupos Hidroxilo que podrían interactuar fácilmente con las regiones electronegativas de otras moléculas corresponden principalmente a 7-OH y 4'-OH. Pueden también participar en estas interacciones los Hidrógenos en 3-OH y 3'-OH; sin embargo estas interacciones son más difíciles porque estas regiones tienen un entorno electronegativo. La Fisetina tiene un potencial mínimo de  $-0,0507$  u.a. El MEP de la Fisetina tiene las características del MEP de la Quercetina además de regiones de potencial negativo alrededor de los carbonos C4a y C5. Esto podría explicarse por la ausencia del oxígeno electronegativo del 5-OH.

En la Genisteína el potencial mínimo tiene un valor de  $-0,0544$  u.a. Figura 3.9. Las regiones con este potencial se localizan principalmente alrededor de los Oxígenos del grupo carbonilo, 5-OH, 4'-OH y 7-OH. Posee zonas de potencial negativo alrededor de los carbonos C4a, C6, C8. A diferencia de la Quercetina y la Fisetina no hay potencial negativo alrededor del enlace doble C2=C3. Los Hidrógenos de los grupos Hidroxilo que podrían interactuar fácilmente con las regiones electronegativas de otras moléculas corresponden principalmente a 7-OH y 4'-OH. En las representaciones del MEP en las superficies de Van der Waals se observa la repulsión entre los Hidrógenos de C2 y C2', esto explica que el benzopirano y el anillo B no sean coplanares.

La Floretina tiene un valor de potencial mínimo de  $-0,0478$  u.a. Figura 3.10. Las regiones con este potencial se localizan principalmente alrededor del Oxígeno del grupo carbonilo, 4'-OH, 5-OH y 7-OH. Este último sin embargo tiene una región de difícil acceso para moléculas electrofílicas por el carácter electropositivo de su entorno. Se observa una región aislada intensa de MEP negativo sobre y bajo el anillo

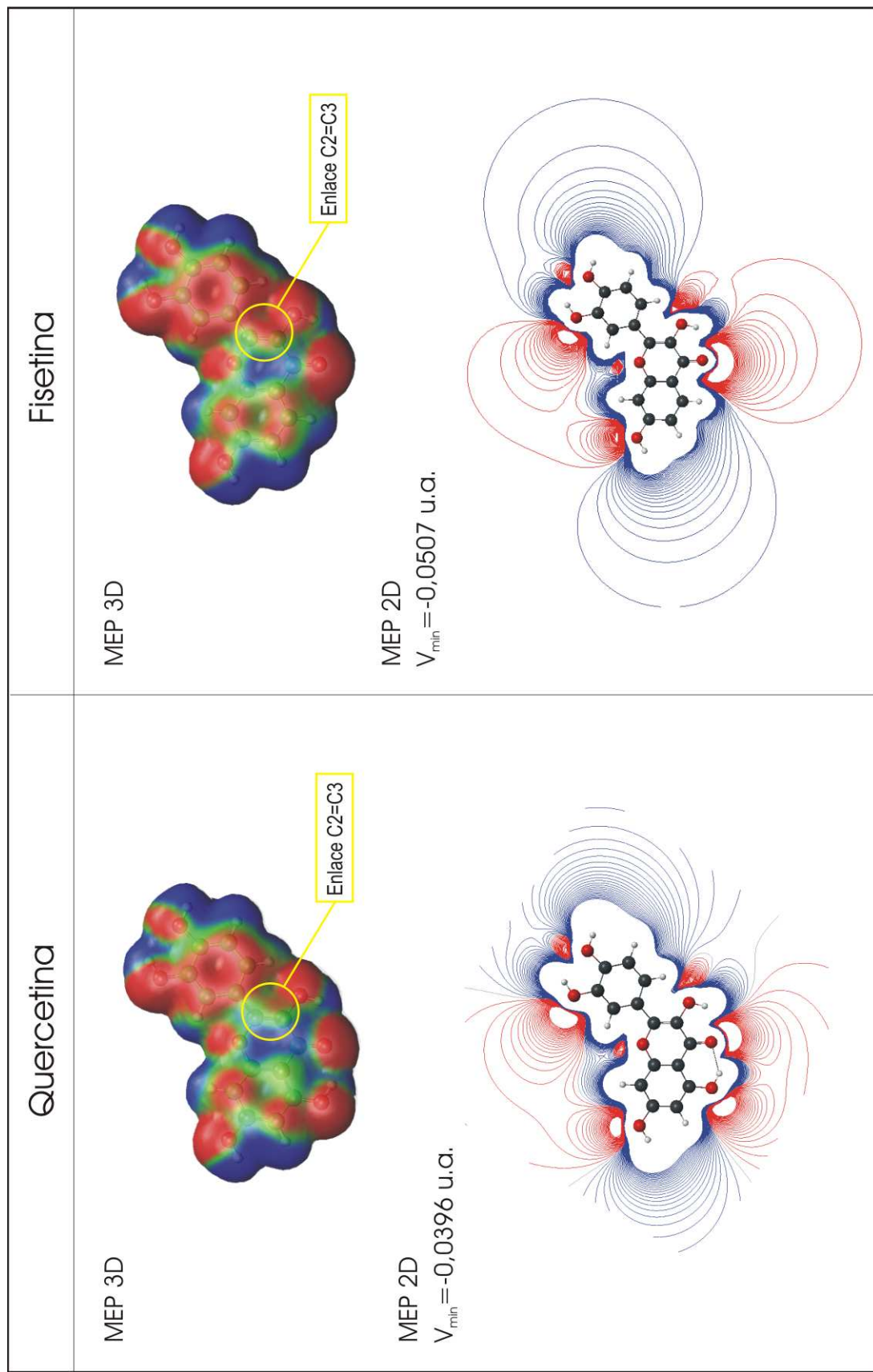
B. Otras zonas electronegativas de menor intensidad se localizan en los carbonos C4a, C5, C6 y C8. Los Hidrógenos de los grupos Hidroxilo que podrían interaccionar fácilmente con las regiones electronegativas de otras moléculas corresponden principalmente a 7-OH, 8a-OH y 4'-OH

Los ácidos Cafeico y Ferúlico tienen potencial mínimo de -0.0548 y -0.0559 u.a. respectivamente. Figura 3.11. Las regiones con este potencial se localizan alrededor de los átomos de Oxígeno del grupo carbonilo, del 4-OH,  $\beta'$ -OH. Las regiones electronegativas de los Oxígenos enlazados a C3 son de difícil acceso. Se observan regiones electronegativas intensas en el anillo y en el enlace doble  $C\alpha=C\beta$ . Los Hidrógenos de los grupos Hidroxilo que podrían interaccionar fácilmente con las regiones electronegativas de otras moléculas corresponden principalmente a 3-OH,  $\beta'$ -OH y en menor medida 4-OH. No se observan otras diferencias significativas entre los gráficos del MEP de estas dos moléculas.

El intenso potencial negativo sobre y bajo el plano del anillo B, así como la región roja alrededor de los enlaces dobles C2=C3, del anillo C de la Quercetina y la Fisetina, evidencian la deslocalización electrónica que sería muy importante para una buena capacidad antioxidante. Estas señales de la deslocalización electrónica también se encuentran en el anillo y el enlace doble  $C\alpha=C\beta$  de los ácidos fenólicos. La planaridad total de estas cuatro moléculas es una evidencia de la conjugación de sus enlaces.

Los MEPs del Agua y del Oxígeno molecular se encuentran en la Figura 3.12. El agua presenta regiones de potencial positivo alrededor de los hidrógenos y potencial negativo alrededor del oxígeno. El Oxígeno molecular está rodeado principalmente por un potencial positivo. Sin embargo, se observan también pequeñas regiones de potencial negativo en los extremos de la molécula. Estas regiones corresponden a la densidad electrónica de los pares solitarios de ambos átomos.

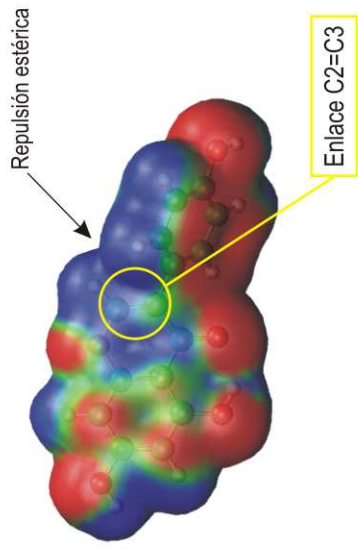




**Figura 3.8.** MEP de la Quercetina y Fisetina. En los gráficos superiores el MEP está representado en las superficies moleculares de Van der Waals, los gráficos inferiores corresponden a líneas de iso potencial. En las figuras superiores se señalan las regiones sobre los enlaces dobles C2=C3, en estas se observa un potencial negativo debido a la deslocalización electrónica. La carga parcial en el O del 3-OH de la Fisetina es ligeramente mayor que en la Quercetina; en la figuras inferiores se aprecia como esto afecta la extensión del potencial negativo alrededor de este Oxígeno.

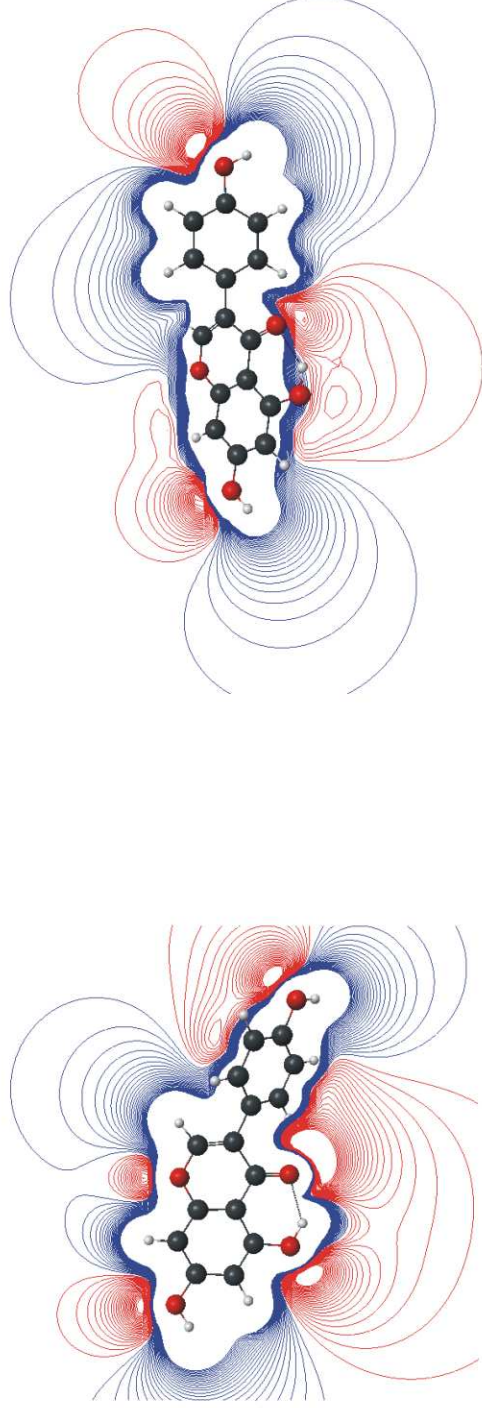
## Genisteína

MEP 3D

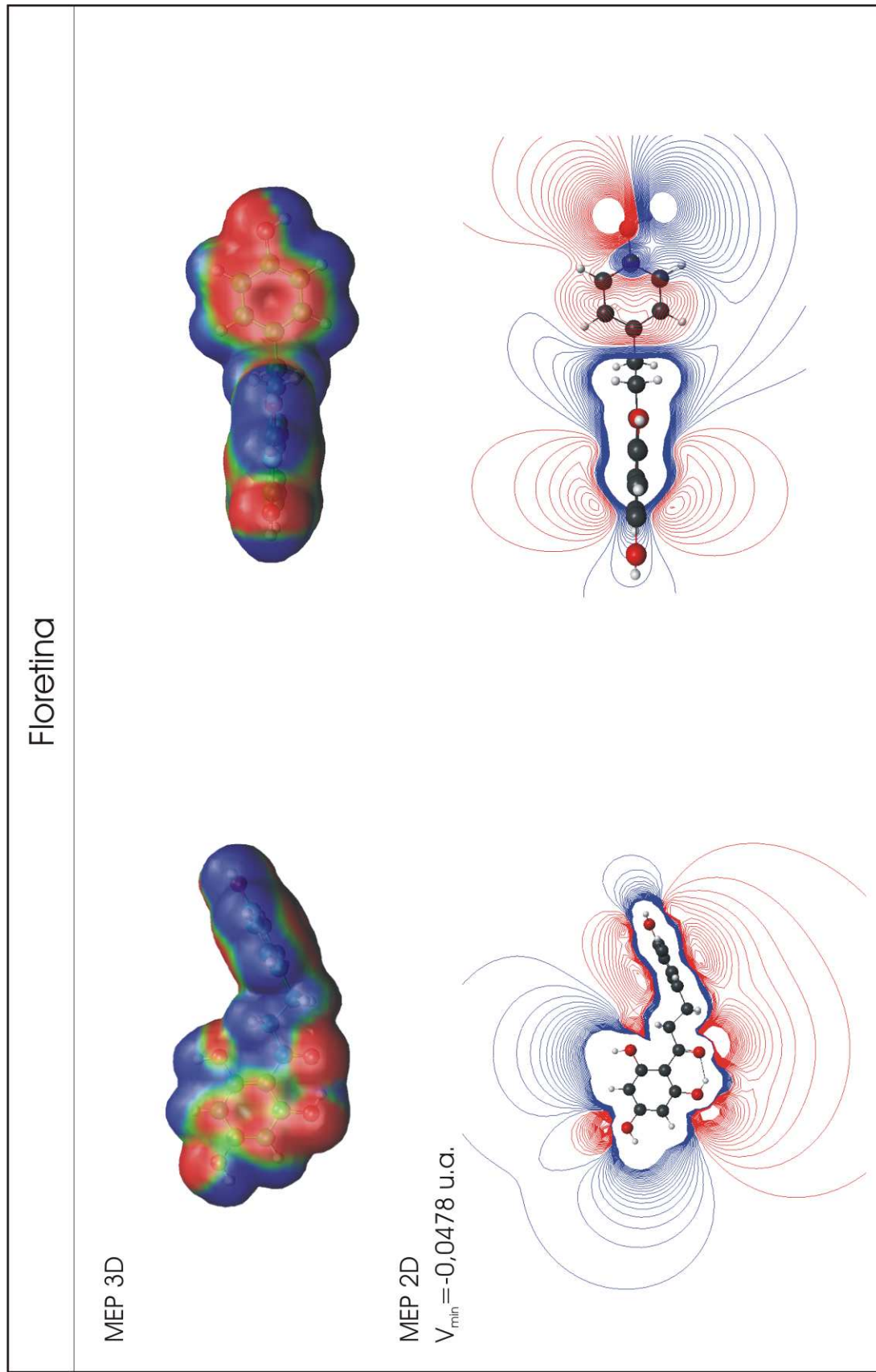


MEP 2D

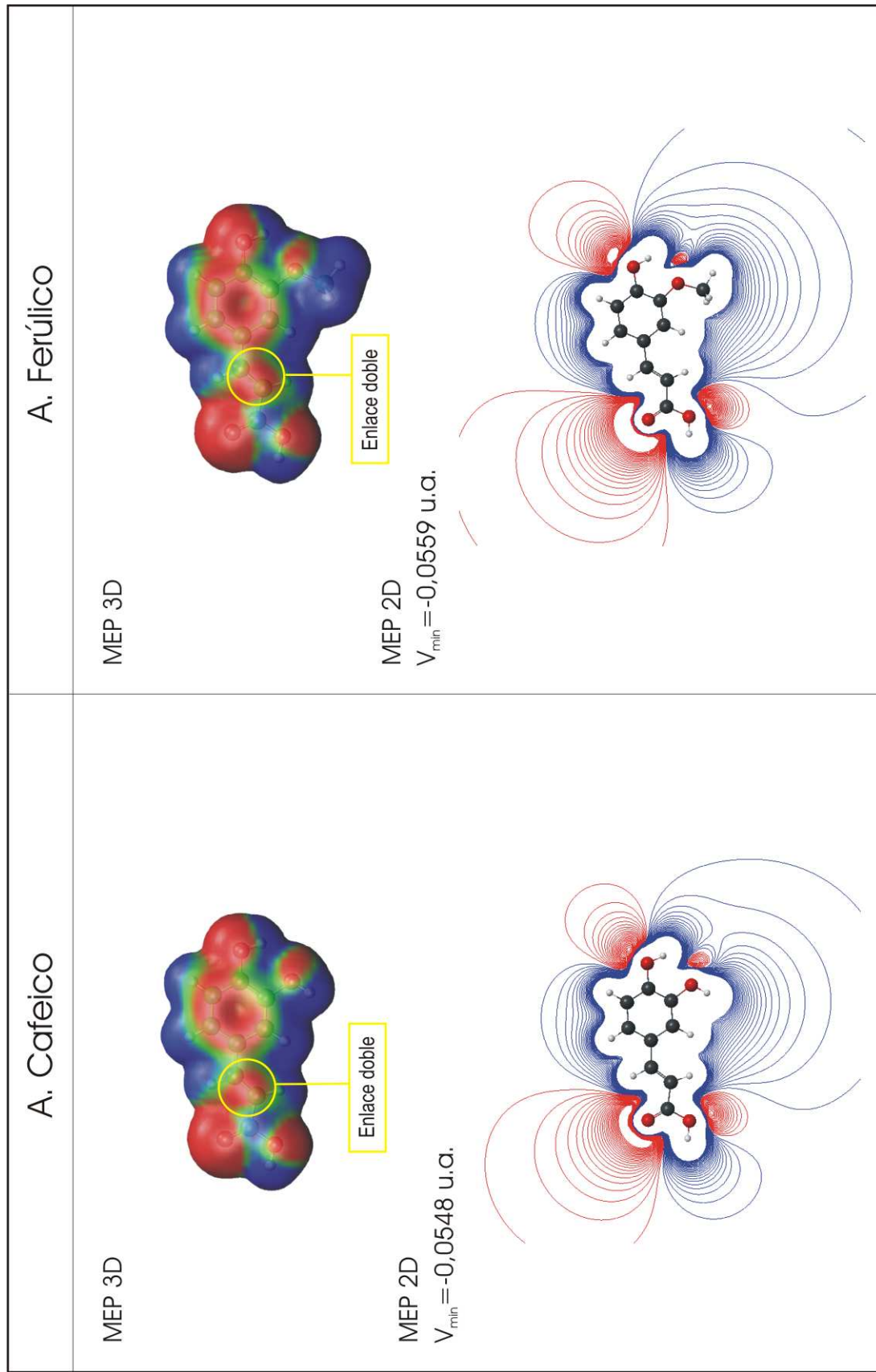
$V_{\min} = -0,0544$  u.a.



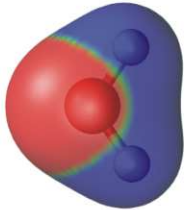
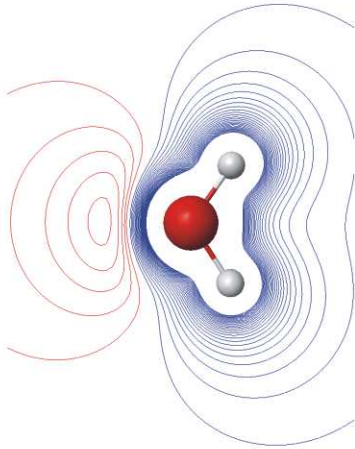
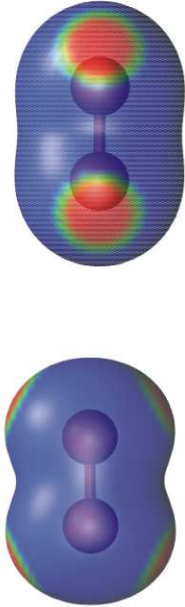
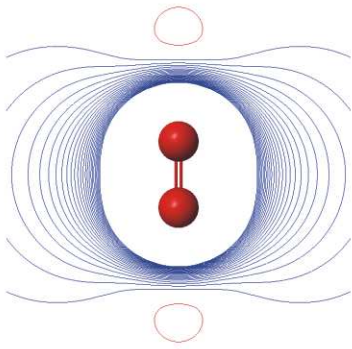
**Figura 3.9.** MEP de la Genisteína. En esta molécula la región sobre el enlace doble C2=C3 es positiva y neutra; a diferencia de la Quercetina y Fisetina en donde es electronegativa. Esto evidencia la no deslocalización total de esta molécula. La representación en superficies moleculares de van der Waals muestra la repulsión estérica entre los hidrógenos de los anillos C y B que producen la torsión de esta molécula.



**Figura 3.10.** MEP de la Floretina. En las figuras superiores se observan dos regiones aisladas de potencial negativo en los anillos A y B.



**Figura 3.11.** MEP de los ácidos Cafeico y Ferúlico. En las figuras superiores se señala el enlace doble  $C\alpha=C\beta$  que tiene zonas bien diferenciadas de potencial negativo, estas características son evidencia de la deslocalización electrónica presente en la molécula.

Agua	Oxígeno molecular
<p data-bbox="336 1832 368 1944">MEP 3D</p>  <p data-bbox="707 1832 786 1944">MEP 2D <math>V_{\min} = -0,500</math> u.a.</p> 	<p data-bbox="336 994 368 1106">MEP 3D</p>  <p data-bbox="683 882 762 1106">MEP 2D <math>V_{\min} = -0,050</math> u.a.</p> 

**Figura 3.12.** MEP del agua y oxígeno molecular. En el  $O_2$  se notan las regiones rojas que corresponden a los pares electrónicos solitarios.

### 3.2.2. Cargas parciales.

Con el propósito de calcular las cargas parciales de los átomos de cada molécula, necesarias para el posterior desarrollo de simulaciones de dinámica molecular, se realizaron nuevos cálculos del MEP. Se utilizó el grupo PDC de GAMESS que determina los puntos ideales para evaluar el potencial, con el objetivo de ajustar las cargas atómicas a dicho potencial. ver Anexo D. Los resultados de estos cálculos sirvieron como datos de entrada para el programa RESP del paquete computacional Amber tools[38], que calcula las cargas parciales que reproducen las características del MEP.

La Tabla 3.10 contiene las cargas parciales derivadas del potencial de los flavonoides y su comparación entre las secciones moleculares análogas. No se consideran las diferencias mayores al 15% entre los átomos cuyas cargas sean muy cercanas a cero. De esta manera entre la Quercetina y la Fisetina la principal diferencia se localiza en el C5 debido a la ausencia del grupo 5-OH en la Fisetina. Entre la Quercetina y la Genisteína las diferencias en las cargas de C2 y C3 se dan por el diferente punto de sustitución del anillo B. La diferencia en C3' se da por la ausencia en la Genisteína y en la Floretina del grupo 3'-OH. Esta ausencia modifica la distribución de la carga a lo largo de todos los átomos del anillo B. Lo mismo sucede al comparar las cargas parciales de los anillos B de la Quercetina y la Floretina; la diferencia en C8a proviene de la ausencia del anillo C en la Floretina.

La Tabla 3.11 muestra que hay diferencias significativas entre las cargas parciales de los ácidos Cafeico y Ferúlico en casi todos sus átomos. Como en el caso de los flavonoides la diferencia entre las cargas pequeñas de C1 podría no considerarse. De esta forma la diferencia mayor estaría concentrada en el oxígeno O4. Teniendo este oxígeno en el ácido Cafeico una carga negativa 2,4 veces mayor que su análogo en el ácido Ferúlico.

Trouillas *et al.*[39] estudiaron la capacidad antioxidante de la Quercetina a partir de los valores de la entalpía de disociación de enlace (BDE) para la extracción del H de los grupos hidroxilo. Los resultados obtenidos muestran que de menor a mayor las entalpías tienen el siguiente orden 4'-OH < 3'-OH < 3-OH < 7-OH < 5-OH. Es decir, energéticamente es más fácil sustraer un Hidrógeno del 4'-OH. Esto evidencia la mayor reactividad de los hidroxilos en el anillo B. La Tabla 3.12 muestra las cargas parciales de los oxígenos de estos hidroxilos en los cuatro flavonoides. Considerando que una carga negativa grande implica una mayor concentración de la densidad electrónica alrededor del Oxígeno lo que provoca un debilitamiento del enlace O-H;

Átomo	Que	Fis	Ges	Flo	Dif. (%)		
					Que vs. Fis	Que vs. Gen	Que vs. Flo
C4a	-0,06	-0,02	-0,05	-0,04			
C5	0,29	-0,14	0,25	0,15	148,3		48,3
C8	-0,19	-0,17	-0,23	-0,33		21,1	73,7
C8a	-0,03	0,05	0,05	0,15			600,0
O1	-0,13	-0,20	-0,19		53,8	46,2	
C2	0,17	0,16	0,03			82,4	
C3	0,12	0,13	-0,07			158,3	
C1'	-0,04	-0,03	-0,01	0,03	25,0		
C2'	-0,23	-0,21	-0,18	-0,19		21,7	17,4
C3'	0,31	0,28	-0,20	-0,27		164,5	187,1
C4'	0,24	0,25	0,28	0,35		16,7	45,8
C5'	-0,33	-0,34	-0,20	-0,28		39,4	15,2
C6'	-0,14	-0,16	-0,18	-0,19		28,6	35,7
HC6	0,19	0,16	0,20	0,19	15,8		
HC5'	0,19	0,19	0,16	0,17		15,8	
HC6'	0,19	0,21	0,16	0,16		15,8	15,8

**Tabla 3.10.** Comparación de las cargas parciales de los flavonoides.

los grupos hidroxilo cuyos oxígenos tengan una magnitud de carga negativa más grande presentarían mayor facilidad para la sustracción de los Hidrógenos.

En la Quercetina y la Fisetina las magnitudes de las cargas de los oxígenos de los hidroxilos son mayores en el anillo B. ver Tabla 3.12. La Quercetina particularmente muestra una disminución del carácter negativo de los oxígenos que corresponde al orden de las entalpías de disociación de enlace propuesto por Trouillas. Tabla 3.12. No existe este comportamiento en la Fisetina, donde a pesar de que las cargas de los oxígenos de los hidroxilos en el anillo B son iguales a aquellas correspondientes de la Quercetina, la carga del oxígeno en el grupo 3-OH es mayor, lo que influiría en su reactividad. De hecho, en la Figura 3.8 se observa como el potencial negativo alrededor del oxígeno en 3-OH de la Fisetina se extiende más que en la Quercetina. En la Genisteína y la Floretina se observa que en el anillo B las magnitudes de las cargas son menores a las de la Quercetina. Además las cargas en los oxígenos del 7-OH ubicado en el anillo A son ligeramente mayores a las del anillo B, es decir considerando únicamente la magnitud de las cargas, en estas moléculas el anillo A sería más reactivo que el anillo B.

Átomo	Dif. (%)		
	Cafeico	Ferúlico	Caf vs. Fer
C1	0,02	0,00	100,0
C2	-0,28	-0,16	42,9
C3	0,19	0,11	42,1
C4	0,43	0,31	27,9
C5	-0,36	-0,27	25,0
C6	-0,15	-0,19	26,7
C $\alpha$	-0,50	-0,37	26,0
C $\beta$	-0,04	-0,05	25,0
O4	-0,64	-0,27	57,8
HC2	0,19	0,14	26,3

**Tabla 3.11.** Comparación de las cargas parciales de los ácidos fenólicos.

	4'-OH	3'-OH	3-OH	7-OH	5-OH	8a-OH
Quercetina	-0,62	-0,61	-0,60	-0,57	-0,55	
Fisetina	-0,62	-0,61	-0,63	-0,60		
Genisteína	-0,56			-0,57	-0,53	
Floretina	-0,56			-0,57	-0,50	-0,50

**Tabla 3.12.** Cargas parciales de los Oxígenos en los hidroxilos de los flavonoides. En la Quercetina la magnitud de esta carga es mayor en el grupo 4'-OH, esto sugeriría que es más fácil extraer el hidrógeno de este grupo hidroxilo.

En base a lo mencionado en los párrafos anteriores, se podría decir que en la Quercetina y la Fisetina las magnitudes de las cargas en los oxígenos de los hidroxilos favorecen la interacción de los radicales libres con las regiones del anillo B, o con el grupo 3-OH del anillo C. Esto apoyaría el hecho experimental de que en estos flavonoides estos sitios moleculares son más reactivos que aquellos en el anillo A[39, 40]. Por el contrario en la Genisteína y la Floretina las magnitudes de las cargas de los oxígenos de los hidroxilos son aproximadamente iguales en los dos anillos y menores a las cargas correspondientes de la Quercetina y Fisetina. Esto sumado a la falta de conjugación de estas moléculas, lo que se sustenta en sus estructuras no planares, nos permitiría proponer que la capacidad antioxidante de la Genisteína y Floretina sería menor que la de la Quercetina o Fisetina.

Adicionalmente, las variables experimentales de dos estudios *in vitro*[11, 12] que usan metodologías y radicales diferentes para evaluar la capacidad antioxidante de la Quercetina y la Fisetina tienen valores muy próximos. De modo que el poder antioxidante de estas moléculas parecería no diferir demasiado. Lo que puede ser justificado por las diferencias mínimas en los parámetros de reactividad (cargas parciales de los oxígenos de los grupos OH) calculados en el presente trabajo.



No se dispone de información acerca de la entalpía de disociación de enlace para la sustracción de un hidrógeno de los hidroxilos de los ácidos Cafeico y Ferúlico. Se ha reportado que la capacidad antioxidante del ácido Ferúlico es superior a la del Cafeico[14]. Sin embargo, la información proporcionada por los MEPs, del presente trabajo, no es suficiente para justificar este hecho. Nuestros resultados muestran que la sustitución del OH por el metoxi disminuye las magnitudes de las cargas negativas de los oxígenos enlazados al anillo, lo que disminuiría su reactividad. Tabla 3.13.

	4-OH	3-OH/3-OMe	$\beta^l$ -OH
Cafeico	-0.64	-0.64	-0.62
Ferúlico	-0.57	-0.27	-0.62

**Tabla 3.13.** Cargas parciales en los oxígenos en los hidroxilos de los ácidos fenólicos.

### 3.2.3. Energía y momentos dipolares.

En la Tabla 3.14 se muestran los valores de las energías de las estructuras optimizadas con el conjunto base 6-311G y las energías y momentos dipolares calculadas con el conjunto base 6-311G\*\*. Como se esperaba al aumentar el tamaño del conjunto base la energía de las estructuras moleculares disminuye. Sin embargo, los valores de energía obtenidos siguen siendo más altos si los comparamos con los calculados con niveles de teoría donde se considera la correlación electrónica.

Conocer los momentos dipolares de los flavonoides es importante porque estas moléculas interactúan con las biomoléculas (proteínas, lípidos, ADN, etc.) a través de los enlaces hidrógeno con los grupos hidroxilo y de las fuerzas de van der Waals. Los momentos dipolares dependen de las orientaciones de los grupos hidroxilo. Por ejemplo en la Figura 3.1, el momento dipolar del isómero 1 de la Quercetina es 2,01 Debyes y el del isómero 2 es de 2,04 Debyes. Estas variaciones son más notorias en la Genisteína donde el isómero 1 tiene un momento dipolar de 1,59 Debyes y el isómero 2 de 4,14 Debyes. Es así que los cambios en las orientaciones de los grupos hidroxilo de estas moléculas pueden provocar un incremento en las interacciones del tipo dipolo-dipolo.

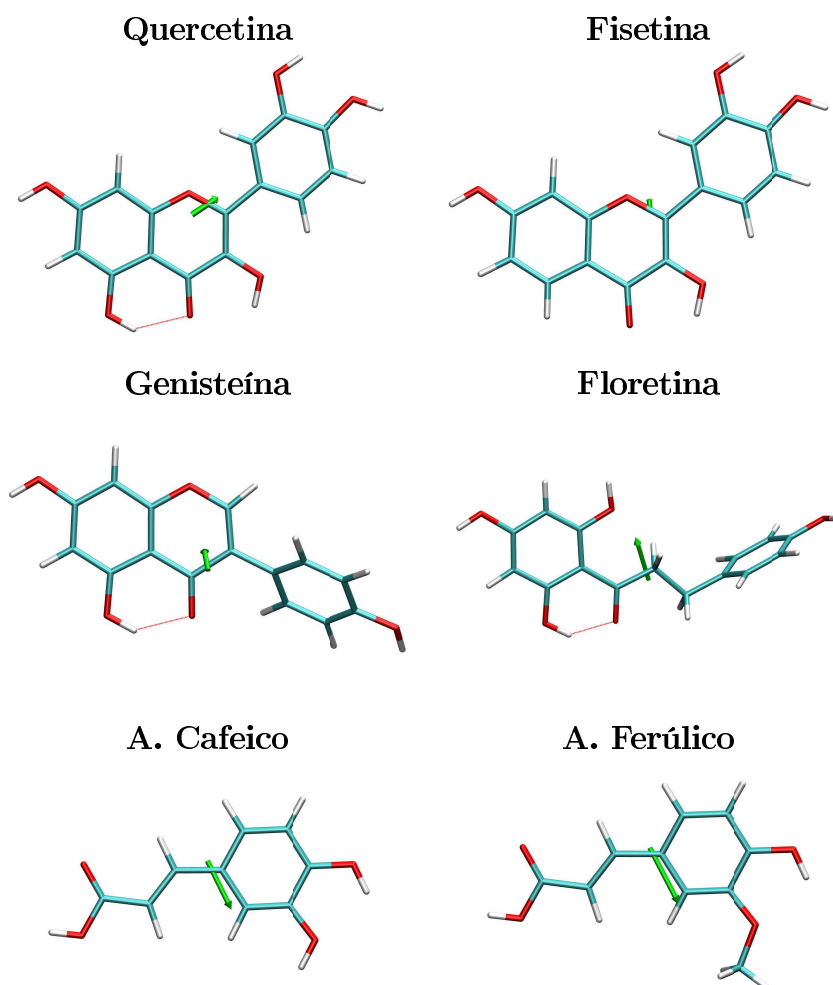
Los módulos de los momentos dipolares de la Quercetina, Floretina y del ácido Cafeico concuerdan de manera aceptable con los resultados reportados en otros estudios[31, 32, 41]. En la Tabla 3.14 se observa que las moléculas más polares son la Floretina y los ácidos Cafeico y Ferúlico. La Quercetina es aproximadamente

3 veces más polar que la Fisetina y 1,3 veces más polar que la Genisteína. A su vez, la Floretina es aproximadamente 2 veces más polar que la Quercetina. De los ácidos fenólicos estudiados el Ferúlico es 1,2 veces más polar que el Cafeico.

	Energía (u.a.)		Momento dipolar $\mu$		
	HF/6-311G	HF/6-311G**	Ref.	HF/6-311G**	Ref.
Quercetina	-1097,688	-1098,150	-1104,473[40]	2,08	2,71[40]
Fisetina	-1022,831	-1023,259		0,72	
Genisteína	-947,987	-948,387		1,64	
Floretina	-950,306	-950,711	-956,18[32]	3,86	3,66[32]
A. Cafeico	-644,809	-645,089	-648,68[31]	3,42	3,50[31]
A. Ferúlico	-683,820	-684,119		4,06	

**Tabla 3.14.** Energías y momentos dipolares de los flavonoides y ácidos fenólicos.

La Figura 3.13 muestra las magnitudes de los vectores de momento dipolar; sus orígenes están definidos en el centro de masa de cada molécula y señalan hacia la región menos electronegativa. Los gráficos fueron generados en VMD.

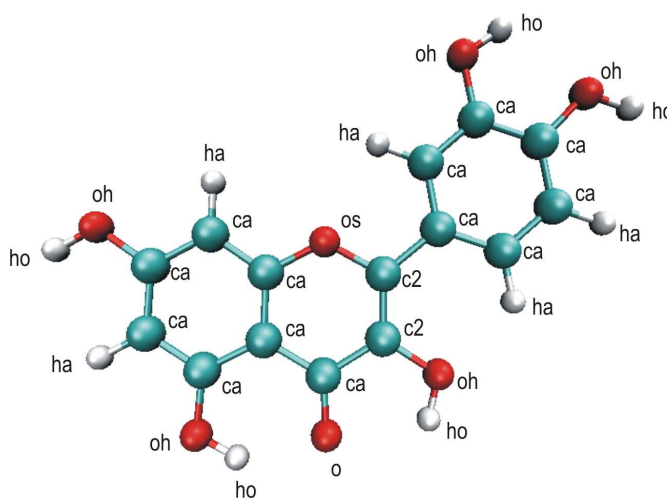


**Figura 3.13.** Momentos dipolares de los flavonoides y ácidos fenólicos.

## Capítulo 4

### Dinámica molecular.

Para la realización de las simulaciones de dinámica molecular se utilizó el programa NAMD y el campo de fuerzas GAFF. Se trabajó únicamente con la Quercetina porque es la molécula que reúne todas las características de un buen antioxidante[14, 39, 40, 41]. Como se mencionó en la Sección 2.5.1.1 el campo de fuerzas GAFF tiene definidos 35 tipos de átomos; en la Quercetina se utilizaron 7 tipos que se pueden observar en la Figura 4.1. La descripción de los tipos de átomos del campo de fuerzas GAFF se encuentra en la Tabla 2.1. La Tabla 4.1. muestra la lista completa de las cargas parciales que se ajustan al MEP de la Quercetina calculadas con el programa RESP de Amber Tools. Los archivos de topología y parámetros se obtuvieron como se indica en tutorial de AMBER correspondiente[42].



**Figura 4.1.** Tipos de átomos del campo de fuerza GAFF utilizados en la Quercetina.

Átomo	Tipo	Carga	Átomo	Tipo	Carga
C2	c2	0,166638	O1	os	-0,132476
C3	c2	0,118575	O2	oh	-0,601563
C4	ca	0,438207	O3	o	-0,582655
C4a	ca	-0,059616	O4	oh	-0,545931
C5	ca	0,288873	O5	oh	-0,570439
C6	ca	-0,342497	O6	oh	-0,609210
C7	ca	0,301863	O7	oh	-0,619235
C8	ca	-0,187045	HC6	ha	0,186535
C8a	ca	-0,032648	HC8	ha	0,171990
C1'	ca	-0,041826	HC2'	ha	0,179519
C2'	ca	-0,228103	HC5'	ha	0,191474
C3'	ca	0,309096	HC6'	ha	0,192371
C4'	ca	0,244012	HO2	ho	0,449925
C5'	ca	-0,332694	HO4	ho	0,435174
C6'	ca	-0,135093	HO5	ho	0,444219
			HO6	ho	0,449512
			HO7	ho	0,453047
<b>Carga total</b>					0,000000

**Tabla 4.1.** Tipos de átomos y cargas parciales de la Quercetina

Con el fin de validar la asignación de los tipos de átomos y los parámetros del campo de fuerzas se minimizó la estructura de la Quercetina con NAMD, ver Anexo E. Estos resultados se compararon con los parámetros estructurales calculados mediante la Mecánica Cuántica utilizando GAMESS. Para esto se calculó el error RMS, es decir, la raíz cuadrada de la suma de los cuadrados de las diferencias entre los parámetros estructurales calculados con GAMESS y NAMD, ver Tabla 4.2. Al probar el rendimiento de GAFF en 74 moléculas los promedios de error RMS fueron de 2,3 pm para las longitudes de enlace y 2,2° para los ángulos de enlace[25]. En la comparación realizada en el presente trabajo, para la Quercetina los errores RMS fueron de 2,1 pm en las longitudes de enlace y 2,6° en los ángulos de enlace. Tanto GAMESS como NAMD calculan moléculas planas. De esta forma, la estructura generada utilizando los tipos de átomos y parámetros de GAFF concuerda de manera aceptable con la estructura calculada con GAMESS.

Enlace (pm)	GAMESS	NAMD	Ángulo	GAMESS	NAMD
O1-C2	137,9	137,6	O1-C2-C3	118,4	121,6
C2-C3	133,9	134,5	C2-C3-C4	122,0	118,0
C3-C4	144,7	150,1	C3-C4-C4a	117,2	119,4
C4-C4a	143,4	139,2	C4-C4a-C8a	119,1	122,4
C4a-C5	140,7	140,0	C4a-C8a-O1	119,4	121,4
C5-C6	137,7	138,4	C8a-O1-C2	123,8	121,1
C6-C7	139,1	138,2	C4a-C5-C6	120,3	120,7
C7-C8	138,5	138,5	C5-C6-C7	119,4	119,6
C8-C8a	137,6	139,2	C6-C7-C8	122,1	120,6
C8a-O1	136,2	137,9	C7-C8-C8a	117,4	120,1
C8a-C4a	139,6	139,4	C8-C8a-C4a	122,7	119,9
C2-C1'	146,7	152,2	C8a-C4a-C5	118,1	119,1
C1'-C2'	139,9	140,8	C3-C2-C1'	129,5	124,8
C2'-C3'	137,3	138,8	C2-C1'-C6'	121,9	124,8
C3'-C4'	138,5	140,3	C1'-C2'-C3'	120,4	121,7
C4'-C5'	137,7	138,7	C2'-C3'-C4'	120,0	120,1
C5'-C6'	138,6	139,9	C3'-C4'-C5'	120,3	119,7
C6'-C1'	139,4	140,9	C4'-C5'-C6'	120,1	119,8
C3-O2	137,1	134,9	C5'-C6'-C1'	120,0	121,8
C4-O3	124,9	124,1	C6'-C1'-C2'	119,1	117,0
C5-O4	134,9	135,3	C4-C3-O2	115,4	114,4
C7-O5	136,1	134,7	C3-C4-O3	119,0	119,0
C3'-O6	137,1	136,4	C6-C5-O4	118,1	117,0
C4'-O7	137,9	136,6	C8-C7-O5	116,5	120,2
<b>error RMS</b>		2,1	C4'-C3'-O6	120,7	121,1
			C3'-C4'-O7	115,2	122,0
			<b>error RMS</b>		2,6

**Tabla 4.2.** Comparación de la estructura de la Quercetina calculada con GAMESS y NAMD.

## 4.1. Interacciones Quercetina - $H_2O$

Para estudiar la interacción de las moléculas de agua con los sitios reactivos de la Quercetina se realizaron simulaciones de dinámica molecular para el sistema Quercetina +  $3H_2O$ . Se colocaron tres moléculas de agua alrededor de cada grupo hidroxilo; un hidroxilo a la vez. Para cada sistema se llevaron a cabo 20 simulaciones, como la Quercetina tiene 5 grupos hidroxilo en total se completaron 100 simulaciones. Cada simulación consistió de tres pasos: minimización del sistema, calentamiento a 300 K y equilibración durante 1 ns. En los Anexos F y G constan los detalles de la preparación de los archivos del campo de fuerzas AMBER y el archivo de configuración para las simulaciones en NAMD.

Un enlace hidrógeno es un tipo especial de interacción dipolo-dipolo entre un átomo de hidrógeno de un enlace polar (e.g. O-H) y un átomo electronegativo (e.g. O, N)[46]. La notación de un enlace hidrógeno es A-H...B, donde A y B son átomos

electronegativos y H es un átomo de hidrógeno. El criterio para establecer la existencia de un enlace hidrógeno es que, la distancia entre los átomos A y B debe ser menor que la suma de la longitud del enlace covalente A-H más los radios de van der Waals de los átomos H y B[47].

Para determinar la reactividad de cada hidroxilo, se cuantificó el número de enlaces hidrógeno formados entre el oxígeno de las moléculas de agua, y los hidrógenos de los grupos hidroxilo de la Quercetina, una vez transcurrido un 1 ns de equilibración. Las Tablas 4.3 a 4.7 muestran estos resultados para las 20 simulaciones de los 5 sistemas. Cuando se han formado enlaces hidrógeno se indica la distancia Que-OH...O. Los campos que no registran ningún valor corresponden a las simulaciones en las que, una vez transcurrido 1 ns, el sistema no presenta enlaces hidrógeno de acuerdo a los parámetros de visualización establecidos en VMD.

Cuando las moléculas de agua fueron colocadas alrededor del 4'-OH, en 15 de las 20 simulaciones los enlaces hidrógeno se formaron en este grupo hidroxilo, ver Tabla 4.3. Cuando las moléculas de agua se colocaron alrededor del 3'-OH en tan solo 6 de las 20 simulaciones los enlaces hidrógeno se formaron en este hidroxilo. En 13 de 20 simulaciones, algunas moléculas de agua se desplazaron hacia el entorno del grupo 4'-OH y formaron enlaces hidrógeno, ver Tabla 4.4. Con las moléculas de agua colocadas alrededor de 7-OH en 19 de las 20 simulaciones los enlaces hidrógeno se formaron alrededor de este hidroxilo, ver Tabla 4.5. Cuando las moléculas de agua se colocaron alrededor del grupo 5-OH no se formó ningún enlace hidrógeno. En 17 simulaciones de las 20 los enlaces se formaron con 7-OH y en 3 simulaciones se formaron enlaces con 4'-OH. Finalmente, con las moléculas de agua colocadas alrededor de 3-OH en tan solo 2 de 20 simulaciones se formaron enlaces hidrógeno. En este sistema se formaron 12 enlaces hidrógeno con 4'OH y 6 con 7-OH.

Los resultados obtenidos mediante las simulaciones de dinámica molecular, se corresponden con las características del Potencial Electroestático Molecular de la Quercetina, ver Figura 3.8. Las regiones más extensas de potencial positivo se localizan alrededor de los hidroxilos 4'-OH y 7-OH; esto justifica que en estos hidroxilos se hayan formado el mayor número de enlaces hidrógeno de la forma Que-OH...O. Se observa también en la Figura 3.8 que el grupo 5-OH está rodeado principalmente por un potencial negativo; esto explica el porqué en esta región no son posibles los enlaces hidrógeno. Nótese además que las regiones electronegativas de las moléculas de agua ubicadas alrededor del grupo 5-OH serán atraídas electrostáticamente hacia la región del 7-OH. En el grupo 3-OH existe una región electropositiva que permite la formación de enlaces hidrógeno pero la extensión del potencial positivo

del 4'-OH es mayor, lo que explicaría que las moléculas de agua ubicadas alrededor de 3-OH se hayan desplazado preferentemente hacia 4'-OH.

Simulación	Distancia Que-OH...O (Å)				
	3-OH	5-OH	7-OH	3'-OH	4'-OH
1					1,82
2					1,81
3					
4					1,60
5					1,74
6					1,67
7					1,73
8					1,60
9					1,59
10			1,88		
11					1,74
12					
13					1,71
14					1,88
15					
16					1,90
17					
18					1,90
19					1,91
20	1,96				1,71
<b>Total de enlaces formados</b>	1	0	1	0	15

**Tabla 4.3.** Moléculas de agua alrededor de grupo 4'-OH. Cuando se ha formado un enlace hidrógeno se indica la distancia Que-OH...O en Å.

Simulación	Distancia Que-OH...O (Å)				
	3-OH	5-OH	7-OH	3'-OH	4'-OH
1					1,64
2				1,71	1,79
3					1,91
4					
5					1,71
6				1,87	
7			1,69		1,67
8					
9					1,95
10					1,78
11			1,76		
12					1,54
13					1,74
14				1,74	1,95
15					1,75
16				2,02	
17					1,73
18					1,83
19				1,91	
20				1,86	
<b>Total de enlaces formados</b>	0	0	2	6	13

**Tabla 4.4.** Simulaciones con las moléculas de agua alrededor del grupo 3'-OH

Simulación	Distancia Que-OH...O (Å)				
	3-OH	5-OH	7-OH	3'-OH	4'-OH
1			1,88		
2			1,59		
3			1,73		
4			1,66		
5			1,81		
6			1,74		
7			1,66		
8					
9			1,58		
10			1,68		
11			1,69		
12			1,88		
13			1,77		
14			1,66		
15			1,84		
16			1,62		
17			1,73		
18			1,75		
19			1,51		
20			1,64		
<b>Total de enlaces formados</b>	0	0	19	0	0

**Tabla 4.5.** Simulaciones con las moléculas de agua alrededor del grupo 7-OH

Simulación	Distancia Que-OH...O (Å)				
	3-OH	5-OH	7-OH	3'-OH	4'-OH
1			1,65		
2			1,78		
3			1,95		
4			1,9		
5			1,69		
6			1,94		
7			1,81		
8			1,73		
9					
10			1,82		
11					1,93
12			1,96		
13			1,75		1,67
14			1,77		
15			1,6		1,57
16			1,76		
17					
18			1,72		
19			1,65		
20			1,83		
<b>Total de enlaces formados</b>	0	0	17	0	3

**Tabla 4.6.** Simulaciones con las moléculas de agua alrededor del grupo 5-OH



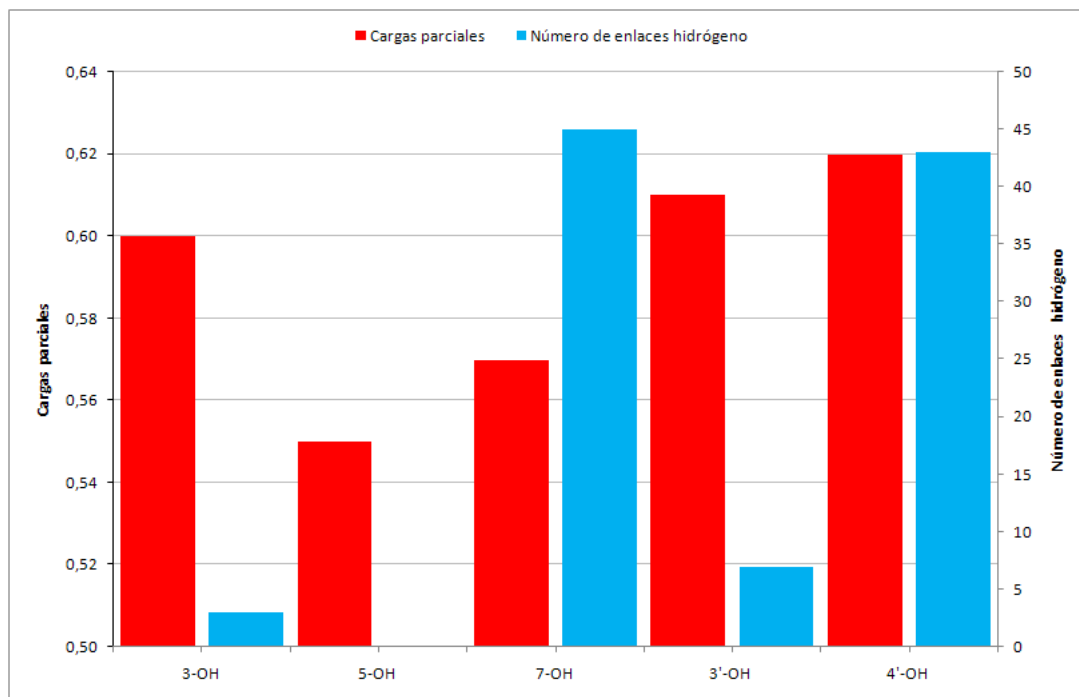
Simulación	Distancia Que-OH...O (Å)				
	3-OH	5-OH	7-OH	3'-OH	4'-OH
1	1,84				1,89
2					1,67
3					1,63
4	1,71				
5					1,90
6					1,68
7				1,77	
8					1,69
9			1,98		1,96
10					1,78
11					1,86
12					1,74
13			1,71		
14			1,92		
15					1,55
16			1,92		1,77
17			1,87		
18					
19					
20			1,87		
<b>Total de enlaces formados</b>	2	0	6	1	12

**Tabla 4.7.** Simulaciones con las moléculas de agua alrededor del grupo 3-OH

La Tabla 4.8 resume los resultados de las simulaciones de dinámica molecular del sistema Quercetina- $3H_2O$ . Se calcularon las longitudes promedio de los enlaces hidrógeno de la forma Que-OH...O. Esta longitud promedio es de 1,76 Å para los hidroxilos que tienden a formar el mayor número de enlaces y 1,84 Å para los hidroxilos restantes. La Figura 4.2 muestra las magnitudes de las cargas de los Oxígenos de los hidroxilos y el número de enlaces hidrógeno formados en cada OH. En este caso los resultados no muestran una correlación entre las magnitudes de las cargas y la facilidad para la formación de enlaces hidrógeno.

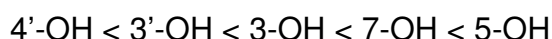
	3-OH	5-OH	7-OH	3'-OH	4'-OH
Total enlaces hidrógeno	3	0	45	7	43
Distancia OH...O promedio [Å]	1,84	0	1,76	1,84	1,76
Desviación estándar (de los datos de las Tablas 4.4 a 4.7)			(0,115)		(0,119)

**Tabla 4.8.** Resumen de los resultados de las simulaciones de dinámica molecular del sistema Quercetina +  $3H_2O$



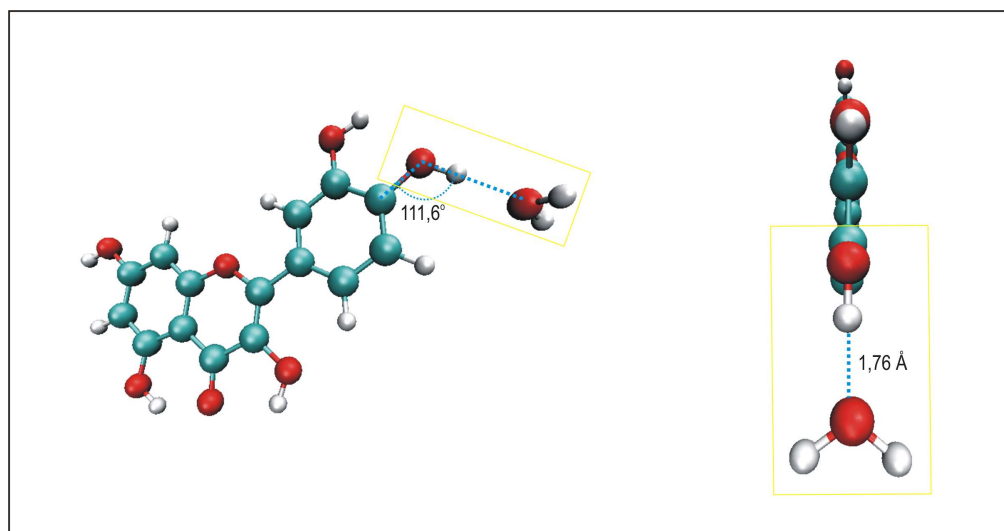
**Figura 4.2.** Cargas parciales (valor absoluto) de los oxígenos de los hidroxilos y número de enlaces hidrógeno formados en cada hidroxilo de la Quercetina. Nótese la correspondencia para el grupo 4'-OH.

En la Quercetina no hay impedimentos geométricos para la interacción de los grupos hidroxilo con las moléculas de agua. Los cinco grupos hidroxilo son accesibles espacialmente puesto que están ubicados en la periferia de la molécula. Trouillas establece que la facilidad energética relativa para sustraer los hidrógenos de estos grupos hidroxilo es, en orden creciente[39]:

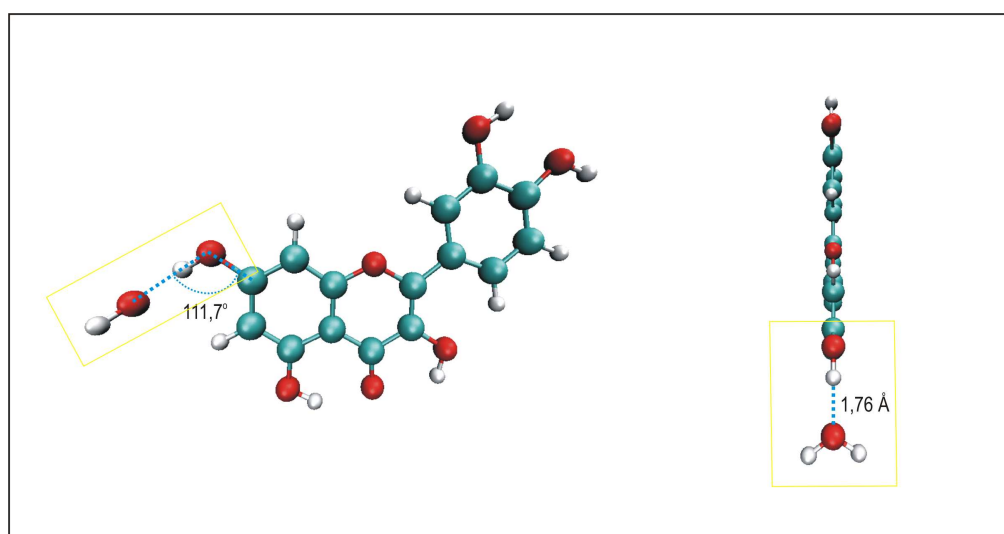


Tomando en cuenta los resultados de las simulaciones de dinámica molecular podemos decir que: en el primer caso es fácil energéticamente sustraer el H en 4'-OH y que además en esta región el H es accesible en términos electrostáticos. Ver Figura 3.8 y Tabla 4.8. Es decir, el 4'-OH es un área molecular muy reactiva químicamente. Con respecto al 3'-OH, a pesar de que presenta facilidad para la sustracción de su H; debido al potencial electrostático, las moléculas no tendrán la facilidad para interactuar con este H, en la mayoría de casos estas serán desviadas hacia el H del 4'-OH, ver valores en la Tabla 4.4. Lo mismo sucede con el 3-OH, en este caso las moléculas que no logren interactuar con el H serán dispersadas hacia el 4'-OH o hacia el 7-OH, ver valores reportados en la Tabla 4.7. Es energéticamente más difícil sustraer el H del 7-OH a pesar de que este H es muy accesible en términos

electrostáticos, ver valores en la Tabla 4.8. En el caso extremo está el 5-OH que es el hidroxilo menos favorable energéticamente para la sustracción y cuyo H es inaccesible electrostáticamente, ver Tabla 4.8 .



**Figura 4.3.** Distancia y orientación de la interacción entre el H del 4'-OH de la Quercetina y una molécula de agua.

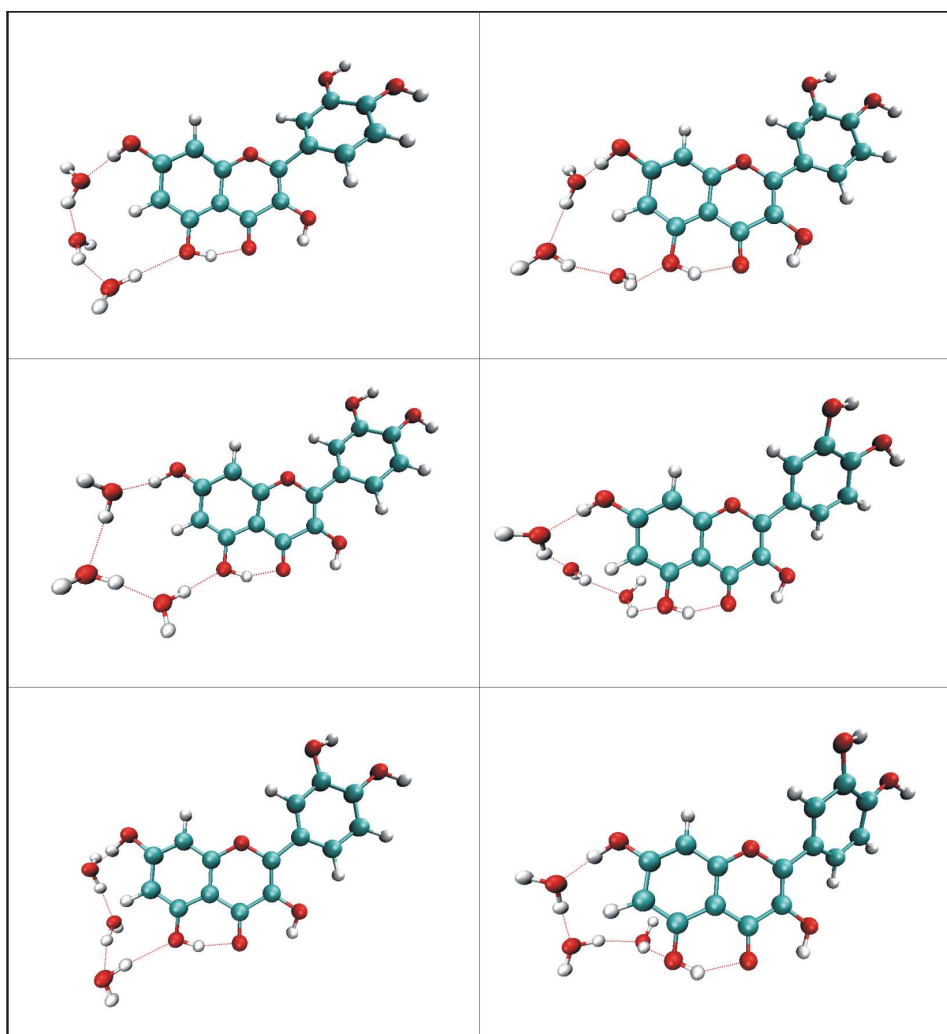


**Figura 4.4.** Distancia y orientación de interacción entre el H del 7-OH de la Quercetina y una molécula de agua.

Los resultados de estas simulaciones permiten también conocer las orientaciones moleculares presentes en las interacciones entre la Quercetina y las moléculas de agua. Los hidroxilos que interactúan con mayor facilidad con las moléculas de agua son el 4'-OH y el 7-OH. Por esta razón se estudiaron únicamente las orientaciones moleculares en las que participan estos grupos OH. De entre todos los enlaces hidrógeno formados en estos hidroxilos se seleccionaron aquellos cuya distancia

de enlace Que-OH...O está en un intervalo de  $1,76 \text{ \AA} \pm$  una desviación estándar, ver Tabla 4.8. Una vez identificados estos enlaces hidrógeno se midió el ángulo de enlace C4'-O7-O y C7-O5-O donde el O sin número es el Oxígeno del agua. Los valores medios de estos ángulos de enlace son  $111,6^\circ$  para el 4'-OH y  $111,7^\circ$  para el 7-OH.

En las Figuras 4.3 y 4.4 se observan las distancias y orientaciones para la interacción entre la Quercetina y una molécula de agua. Estas interacciones son las más comunes según las simulaciones de dinámica molecular realizadas. En las figuras mencionadas se muestran los casos ideales, en las simulaciones se observaron ligeras desviaciones de las orientaciones planteadas. Estas desviaciones de deben a las interacciones entre la molécula de agua que forma el enlace hidrógeno con las 2 moléculas de agua restantes, cercanas entre sí en un espacio relativamente pequeño.



**Figura 4.5.** Conformaciones de enlaces hidrógeno formados por las moléculas de agua entre los hidroxilos del anillo A de la Quercetina.

Cabe mencionar que las interacciones moleculares muestran una configuración recurrente en las simulaciones en las que las moléculas de agua se colocaron en la región del anillo A. En la Figura 4.5 se observa la cadena de enlaces hidrógeno que se extiende en el espacio conformado entre el H del 7-OH hasta el O del 5-OH. Esta conformación se presentó en 28 de las 40 simulaciones que involucraron al 7-OH y al 5-OH.

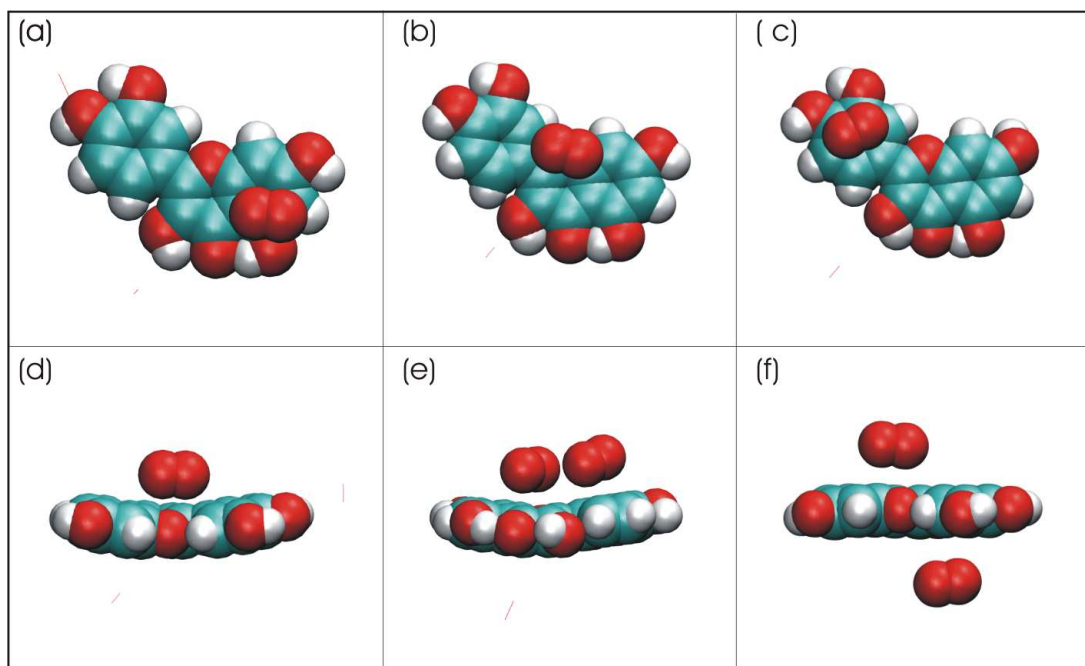
## 4.2. Interacciones Quercetina - $O_2$

Las simulaciones de dinámica molecular muestran una interacción débil del  $O_2$  con la Quercetina en relación a lo observado con las moléculas de agua. Esto se debería a que el momento dipolar del  $O_2$  es cero, por consiguiente las cargas parciales son nulas y las interacciones moleculares no enlazadas provienen únicamente del término del potencial de Lennard-Jones. Sin embargo, fue posible identificar regiones moleculares de la Quercetina a las que las moléculas de Oxígeno tienden a dirigirse. Estas principalmente corresponden a las zonas que presentan un potencial electrostático negativo.

El campo de fuerzas GAFF no proporciona los parámetros para el  $O_2$ , en este caso la ayuda en línea de AMBER recomienda utilizar los parámetros del oxígeno del grupo carbonilo para el término del potencial de Lennard-Jones[43]. Para facilitar la visualización de las interacciones se realizaron simulaciones del sistema Quercetina +  $3O_2$ . Debido a que análisis previos mostraron que las moléculas de oxígeno no interactúan de manera notoria con los grupos hidroxilo, no se prepararon sistemas diferentes para cada OH como en el caso del agua. Se colocaron las moléculas de oxígeno en posiciones arbitrarias cercanas a la Quercetina y se ejecutaron 20 simulaciones. Cada simulación consistió en la minimización, el calentamiento a 300 K y la equilibración del sistema por 1 ns. ver Anexo G.

El programa VMD facilitó el registro de los períodos de las simulaciones en los que las moléculas de Oxígeno se acercaban a menos de 5 Å de la Quercetina, ver Anexo H. Estas interacciones se visualizaron de mejor manera mediante la representación de las moléculas en esferas de Van der Waals. Las moléculas de oxígeno se acercaron y permanecieron junto a las regiones de MEP negativo. Principalmente se desplazaban a una distancia de aproximadamente 3,1 Å del plano de la Quercetina, esto sucedió en 14 de las 20 simulaciones. La Figura 4.6 muestra algunas de las ubicaciones de las moléculas de oxígeno sobre y bajo los anillos de la Quercetina. El MEP mayoritariamente positivo que rodea al  $O_2$  mostrado en la Figura 3.12

explica la orientación horizontal de la molécula de Oxígeno cuando interacciona con los planos de los anillos de la Quercetina.

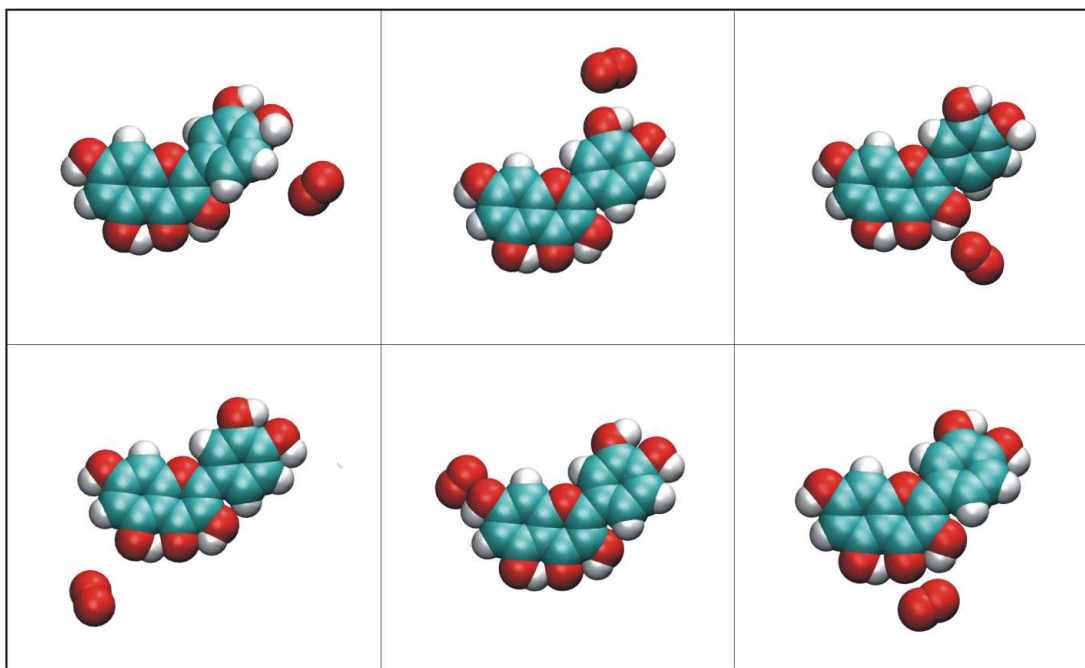


**Figura 4.6.** Interacción del oxígeno molecular con la Quercetina. Desde (a) hasta (c) la molécula de oxígeno se desplaza a lo largo de la molécula. En (d) se observa la mínima distancia de interacción donde las esferas de van der Waals casi se solapan. En (e) dos moléculas de oxígeno se desplazan sobre el plano de la Quercetina. En (f) dos moléculas se desplazan sobre y bajo el plano de la Quercetina. Las líneas rojas son las moléculas de oxígeno que están a más de 5 Å de cualquier átomo de la Quercetina.

La Tabla 4.9 resume el número de veces que las otras zonas de la Quercetina con potencial electronegativo interactuaron con las moléculas de Oxígeno. Estas zonas corresponden principalmente a las generadas por los átomos de Oxígeno de los hidroxilos y del carbonilo. Nuevamente se visualizan las moléculas de oxígeno que están a menos de 5 Å de la Quercetina. Se observa que las interacciones se dieron alrededor de la región del 4'-OH y del 3-OH, seguida por la región del 7-OH. Estas interacciones no fueron duraderas, las moléculas de oxígeno tendían a desplazarse hacia las zonas sobre y bajo el plano de la Quercetina. La Figura 4.7 muestra algunas de las orientaciones moleculares observadas en estas interacciones.

	3-OH	5-OH	7-OH	3'-OH	4'-OH
<b>Total</b>	8	3	5	1	8

**Tabla 4.9.** Número de interacciones entre el oxígeno molecular y las zonas de potencial negativo de la Quercetina generadas por los oxígenos de los grupos hidroxilo.



**Figura 4.7.** Interacciones entre el oxígeno molecular y las zonas de potencial negativo de la Quercetina generadas por los oxígenos de los grupos hidroxilo y del carbonilo. En todos los casos las moléculas de  $O_2$  están a menos de 5 Å de la Quercetina.

# Capítulo 5

## Conclusiones.

Se calcularon las geometrías de equilibrio de cuatro flavonoides, dos derivados del ácido cinámico y de las moléculas de agua y Oxígeno; usando el método mecano cuántico *ab initio* en el nivel de teoría RHF/6-311G. Las estructuras moleculares de la Quercetina y la Fisetina son completamente planas. Las estructuras de la Genisteína y la Floretina presentan ángulos de torsión de  $47,2^\circ$  y  $90,9^\circ$ , respectivamente, esto hace que los anillos A y B de estas moléculas no sean coplanares. Las geometrías de equilibrio de los ácidos cafeico y ferúlico son totalmente planas. Estos resultados concuerdan con lo reportado en la bibliografía para la Quercetina[39, 40, 41, 44], Floretina[32], y para el ácido Cafeico[31]

Estudios de las flavonas tanto en fase gaseosa como en sólidos cristalinos muestran que el anillo C tiene longitudes de enlace (C2=C3, C3-C4, C4-C4a) que difieren del resto de enlaces de la molécula. Adicionalmente, en este anillo el ángulo de enlace C3-C4-C4a es el menor de entre todos los ángulos de enlace de los tres anillos[34, 35]. Las flavonas Quercetina y Fisetina estudiadas en el presente trabajo poseen estas características. Además se encontró que estas propiedades estructurales del anillo central no son exclusivas de las flavonas sino que también se hallan en el anillo C de isoflavona Genisteína. ver Tabla 3.3.

Se realizaron comparaciones entre las estructuras de equilibrio de los antioxidantes. Al contrastar los parámetros estructurales de la Quercetina y la Fisetina se encontró que su distinto grado de hidroxilación no produce diferencias significativas en sus estructuras de equilibrio. Las diferencias en los parámetros estructurales de estas moléculas son menores al 1%. ver Tabla 3.2. Se ha reportado que la longitud del enlace que une al anillo central y al anillo B depende del ángulo diedro entre los



planos de estos anillos[35]; nuestros resultados confirman esta propiedad, la Genisteína que no es plana tiene este enlace aproximadamente un 1 % más largo que la Quercetina y Fisetina que son moléculas planas. ver Tablas 3.3 y 3.4.

La Floretina por la ausencia del anillo central y del enlace doble C2=C3 es una molécula muy flexible estructuralmente; esto dificulta su comparación con las moléculas que si tienen el anillo central definido. Sin embargo, su estructura de equilibrio puede ser descrita como dos regiones planas perpendiculares entre si, ver Figura 3.4 y Tabla 3.1. La comparación entre las estructuras de los ácidos Cafeico y Ferúlico muestra que sus geometrías moleculares de equilibrio son muy similares; las diferencias entre sus parámetros estructurales son menores al 0,70 %, ver Tabla 3.7.

Las moléculas con estructuras planas son importantes desde el punto de vista de la capacidad antioxidante. Las moléculas orgánicas que poseen estructuras planas son moléculas conjugadas; es decir, presentan enlaces dobles y simples alternados. Esto extiende la deslocalización electrónica a lo largo de toda la estructura molecular y permite que sus especies radicales sean estables. Se conoce que las moléculas cuyas especies radicales son estables son buenos antioxidantes[8]. En nuestro caso las moléculas conjugadas, de acuerdo a la planaridad de sus estructuras de equilibrio calculadas en el presente trabajo son: la Quercetina, Fisetina y los ácidos Cafeico y Ferúlico.

Las estructuras de equilibrio de las moléculas de agua y oxígeno calculadas con la metodología utilizada en los antioxidantes muestran que el nivel de teoría RHF/6-311G proporciona longitudes de enlace más cortas que los valores experimentales[16, 17], ver Tablas 3.8 y 3.9. Esto fue ratificado al comparar los resultados de un análisis conformacional del ácido Cafeico donde se utiliza un nivel de teoría más sofisticado[31]; en este caso nuestras longitudes de enlace son más cortas hasta en un 1,5 %, ver Tabla 3.6. El ángulo de enlace calculado para el agua presenta una gran diferencia con respecto al valor experimental; esta diferencia se reduce al realizar optimizaciones con conjuntos base que incluyen funciones de polarización, ver Tabla 3.8. Esto sugiere que, en general, para obtener parámetros estructurales más cercanos a los valores experimentales es necesario realizar cálculos de geometrías de equilibrio con bases al menos del tipo 6-311G\*\*.

Se calcularon las propiedades electrostáticas de los flavonoides, derivados del ácido cinámico y de las moléculas de agua y oxígeno en el nivel de teoría RHF/6-311G\*\*. La representación de los Potenciales Electroestáticos Moleculares en las superficies de van der Waals muestran las posibles regiones de interacción entre

los antioxidantes y las moléculas relacionadas a los radicales oxidativos. Las regiones de potencial negativo se localizan alrededor de los átomos de Oxígeno; pero principalmente sobre y bajo el plano del anillo B de todos los flavonoides, esto indica la deslocalización electrónica en estas regiones aromáticas. Se evidencian también regiones de potencial negativo sobre el enlace doble C2=C3 de la Quercetina y la Fisetina, ver Figura 3.8; esto es una prueba de la conjugación de estas dos moléculas. Los resultados no muestran un potencial negativo en el enlace doble C2=C3 de la Genisteína, ver Figura 3.9.

La Floretina muestra dos regiones aisladas de potencial negativo en los anillos A y B, ver Figura 3.10. Esto limitaría la estabilidad de las especies radicales de la Floretina y por consiguiente su capacidad antioxidante. En los ácidos Cafeico y Ferúlico la conjugación total de las moléculas es evidente a través de las zonas de potencial negativo en la región del anillo y del enlace doble  $C\alpha=C\beta$ , ver Figura 3.11.

Las representaciones del MEP en líneas de iso potencial muestra la extensión del potencial electrostático más allá de la superficie molecular de Van del Waals. Estas representaciones además nos permiten observar como regiones con potencial negativo o positivo están cubiertas por un potencial complementario; esto reduce las posibilidades de interacciones moleculares en estas zonas. Estos casos se presentan en la región de potencial negativo generada por el oxígeno del 4'-OH y del 3-OH, y en la región de potencial positivo generada por el hidrógeno de 5-OH tanto en la Quercetina como en la Fisetina, ver Figura 3.8. Algo similar ocurre con el oxígeno del 7-OH y el hidrógeno del 5-OH en la Genisteína y en la Floretina, ver Figuras 3.8 y 3.9. En los ácidos cinámicos se observa el aislamiento del potencial negativo alrededor del oxígeno del 3-OH y 3-OMe, ver Figura 3.11.

Por otro lado, las representaciones del MEP en líneas de iso potencial muestran grandes extensiones de potencial positivo que podrían interaccionar con las regiones electronegativas de los radicales libres, para iniciar la reacción de extracción de un hidrógeno. En los flavonoides estas regiones de potencial positivo se localizan principalmente alrededor de los hidrógenos de 4'-OH, 7-OH, y 8a-OH (Floretina), ver Figuras 3.8 a 3.10. En los ácidos cinámicos estas regiones se ubican alrededor de todos los hidrógenos de los grupos hidroxilo y metoxi, ver Figura 3.11.

La barrera energética para la extracción de un hidrógeno de la Quercetina fue calculada por Trouillas[39]; en el presente trabajo relacionamos sus resultados con las magnitudes de las cargas parciales de los átomos de oxígeno de los grupos hidroxilo. Mientras mayor sea la carga negativa del oxígeno más fácil sería sustraer el hidrógeno del hidroxilo. Según esta hipótesis nuestros resultados concuerdan con

lo propuesto por Trouillas para la Quercetina: energéticamente es más fácil arrancar un hidrógeno del 4'-OH y nuestros cálculos muestran que la carga negativa más grande corresponde al oxígeno de este OH, ver Tabla 3.12.

Siguiendo con la hipótesis mencionada en el párrafo anterior, proponemos que los potenciales antioxidantes como donadores de hidrógenos de la Quercetina y la Fisetina son iguales, puesto que las estructuras y las cargas parciales en los oxígenos de los grupos hidroxilo de estas dos moléculas son muy similares, ver Tabla 3.12. Esto concuerda con los resultados experimentales que determinan capacidades antioxidantes similares para la Quercetina y la Fisetina[11, 12]. Con respecto a la Genisteína y Floretina, los resultados muestran que las cargas de los oxígenos de sus hidroxilos son menores a las de Quercetina, ver Tabla 3.12; esto sumado a la falta de conjugación de estas moléculas (estructuras no planas) sugeriría que sus actividades antioxidantes serán menores que la Quercetina.

Publicaciones apoyadas en datos experimentales plantean que la capacidad antioxidante del ácido Ferúlico es superior a la del Cafeico[14]; sin embargo, la información obtenida en este estudio no es suficiente para apoyar o contrastar este planteamiento. Estructuralmente las moléculas son similares y cualitativamente los potenciales electrostáticos tienen las mismas características. El reemplazar el hidroxilo por el grupo metoxi altera la distribución de las cargas parciales en toda la molécula, teniendo los oxígenos de los hidroxilos del ácido Cafeico una carga mayor que la del Ferúlico. ver Tabla 3.13. No se dispone de información acerca de la entalpía de disociación de enlace para la extracción de un hidrógeno en estas moléculas; pero siguiendo el razonamiento aplicado a los flavonoides, el ácido Cafeico tendría un potencial antioxidante mayor que el del ácido Ferúlico, lo que contradice el resultado experimental mencionado. Estas moléculas ameritan un estudio más detallado de su estructura electrónica a fin de encontrar elementos de contraste.

Las simulaciones de dinámica molecular entre la Quercetina y el agua muestran que las interacciones preferenciales entre estas dos moléculas se dan a través de enlaces hidrógeno de la forma Que-OH...O en 4'-OH y en 7-OH, ver Tabla 4.8. Los hidrógenos en 3'-OH, 3-OH y 5-OH tienen posibilidades más limitadas de interacciones de este tipo por las características electrostáticas de su entorno. Si consideramos que es energéticamente más fácil arrancar un hidrógeno de 4'-OH que de 7-OH[39], llegamos a la conclusión de que la interacción entre un radical y la Quercetina es espacialmente y energéticamente favorable en el grupo 4'-OH, lo que está de acuerdo con los resultados experimentales que ubican al anillo B como el sitio más reactivo[14].

Los resultados de las simulaciones en el 4'-OH muestran que la distancia promedio de interacción Que-OH...O es de 1,76 Å con un ángulo C4'-O-O<sub>H<sub>2</sub>O</sub> de 111,6°, ver Figura 4.3. La distancia promedio concuerda con el criterio para establecer la presencia de un enlace hidrógeno mencionada al inicio de la Sección 4.1. La distancia entre los átomos de Oxígeno del hidróxilo y del agua es 2,71 Å (long. enlace O-H = 0,945 entonces 0,945 + 1,76 = 2,71 Å). Considerando que los radios de van der Waals son 1,2 Å para el H y 1,4 Å para el O; 0,945 + 1,2 + 1,4 = 3,55 Å. De donde 2,71 < 3,55, entonces hay enlace hidrógeno. Estos resultados son un punto de partida importante para estudiar los mecanismos de las reacciones entre la Quercetina y las especies reactivas del Oxígeno.

Las simulaciones de dinámica molecular entre la Quercetina y el O<sub>2</sub> muestran una interacción más débil entre estas moléculas, en relación a lo observado con el agua. Sin embargo, se pudo apreciar que las moléculas de oxígeno interactúan con las regiones de MEP negativo de la Quercetina, principalmente con la originada por la deslocalización electrónica. Es así que las moléculas de oxígeno se ubican en posición horizontal a una distancia aproximada de 3 Å sobre y bajo el plano de la Quercetina, ver Figura 4.6. Son posibles también interacciones con las regiones negativas generadas por los átomos de oxígeno pero eventualmente las moléculas se desplazarán sobre y bajo el plano de la molécula. A futuro sería importante observar si son posibles estas interacciones con la Fisetina que es 3 veces menos polar que la Quercetina; de esta forma se podría incluir la información de la polaridad de las moléculas en el estudio de su potencial antioxidante.

Finalmente, para avanzar en el estudio de los mecanismos de reacción entre la Quercetina y los radicales libres derivados del oxígeno sugerimos tomar la configuración molecular planteada en el presente trabajo, Figura 4.6, reemplazar la molécula de agua por una especie reactiva del oxígeno (e.g. OH·), afinar los cálculos de la estructura electrónica de este sistema utilizando la teoría de perturbaciones MP2 y estudiar los estados de transición de este sistema.

## Anexo A: Archivo de entrada para las optimizaciones de geometría molecular en GAMESS

```
$CONTRL SCFTYP=RHF RUNTYP=OPTIMIZE EXETYP=RUN MAXIT=200 MULT=1 $END
$SYSTEM TIMLIM=525600 MEMORY=33554432 $END
$BASIS GBASIS=N311 NGAUSS=6 $END
$GUESS GUESS=HUCKEL $END
$SCF DIRSCF=.TRUE. $END
$CONTRL NZVAR=90 $END
$ZMAT DLC=.TRUE. AUTO=.TRUE. $END
$STATPT OPTTOL=1e-04 NSTEP=200 HSEND=.TRUE. $END
$DATA
Optimizacion Quercetina 6-311G
C1
C 6.0 38.01157 44.53848 162.81053
C 6.0 38.41420 43.28302 163.21422
C 6.0 39.78468 42.96799 163.29030
C 6.0 40.70734 43.95845 162.94666
C 6.0 40.33033 45.21852 162.54073
C 6.0 38.97224 45.48955 162.47897
C 6.0 40.26455 41.67975 163.70442
C 6.0 41.70045 41.48656 163.74033
C 6.0 42.55817 42.46253 163.40244
C 6.0 44.02430 42.45065 163.37601
C 6.0 44.75869 41.33600 163.78203
C 6.0 46.14437 41.36611 163.74255
C 6.0 46.79899 42.49725 163.30168
C 6.0 46.07741 43.61088 162.89589
C 6.0 44.70350 43.59040 162.93222
O 8.0 42.04066 43.68043 163.01114
O 8.0 39.51739 40.73180 164.02956
O 8.0 46.71848 44.73912 162.45624
O 8.0 48.16875 42.62673 163.22444
O 8.0 42.11845 40.24426 164.13974
O 8.0 38.62257 46.74078 162.07515
O 8.0 37.46211 42.38103 163.52870
H 1.0 36.96358 44.75288 162.76123
H 1.0 37.68857 46.91196 162.03799
H 1.0 37.81026 41.52767 163.80191
H 1.0 41.37013 39.68098 164.33502
H 1.0 48.66898 41.86874 163.50053
H 1.0 47.66709 44.65615 162.46783
H 1.0 44.17462 44.46171 162.61493
H 1.0 46.70586 40.50640 164.05605
H 1.0 44.25791 40.45777 164.12268
H 1.0 41.05260 45.96120 162.28255
$END
```

## Anexo B: Archivo de entrada para el cálculo de energía y propiedades electrostáticas moleculares en GAMESS

```
$CONTRL SCFTYP=RHF RUNTYP=ENERGY EXETYP=RUN MAXIT=200 MULT=1 $END
$SYSTEM TIMLIM=525600 MEMORY=33554432 $END
$BASIS GBASIS=N311 NGAUSS=6 NDFUNC=1 NPFUNC=1 $END
$GUESS GUESS=HUCKEL $END
$SCF DIRSCF=.TRUE. $END
$ELDENS IEDEN=1 $END
$ELPOT IEPOT=1 $END
$ELMOM IEMOM=1 $END
$CUBE CUBE=.T. MESH=COARSE $END
$DATA
Energía y propiedades electrostáticas Quercetina 6-311G**
C1
C 6.0 -4.34838 -0.92385 -0.00428
C 6.0 -3.76117 0.32171 0.00577
C 6.0 -2.35926 0.44493 0.00341
C 6.0 -1.59693 -0.72414 -0.00897
C 6.0 -2.16048 -1.97887 -0.01902
C 6.0 -3.54282 -2.05742 -0.01640
C 6.0 -1.69008 1.71372 0.01244
C 6.0 -0.24284 1.69878 0.00787
C 6.0 0.45501 0.55571 -0.00390
C 6.0 1.90724 0.34878 -0.00812
C 6.0 2.80390 1.41574 -0.05095
C 6.0 4.16895 1.17428 -0.05445
C 6.0 4.64296 -0.11846 -0.01508
C 6.0 3.76009 -1.18536 0.02766
C 6.0 2.40618 -0.95758 0.03069
O 8.0 -0.23796 -0.63676 -0.01142
O 8.0 -2.28412 2.81273 0.02479
O 8.0 4.22205 -2.47567 0.06720
O 8.0 5.97872 -0.46086 -0.01437
O 8.0 0.35821 2.93071 0.01764
O 8.0 -4.08021 -3.30827 -0.02634
O 8.0 -4.56695 1.40399 0.01796
H 1.0 -5.41507 -0.99034 -0.00234
H 1.0 -5.02578 -3.33973 -0.02461
H 1.0 -4.09538 2.23525 0.02429
H 1.0 -0.29356 3.62416 0.03039
H 1.0 6.58329 0.26483 -0.04350
H 1.0 5.16836 -2.52849 0.06153
H 1.0 1.75307 -1.79831 0.06304
H 1.0 4.85520 1.99649 -0.08774
H 1.0 2.44635 2.41724 -0.08007
H 1.0 -1.56021 -2.85916 -0.02855
$END
```

## Anexo C: Script para crear representaciones del MEP en VMD

```
set viewplist {}
material add SemiTrans
material change ambient SemiTrans 0.000000
material change specular SemiTrans 0.500000
material change diffuse SemiTrans 0.650000
material change shininess SemiTrans 0.534020
material change opacity SemiTrans 0.660000
color scale method RGB
# Display settings
mol new quercetina_mep.cube type cube waitfor all
mol addfile quercetina_den.cube type cube waitfor all
mol delrep 0 top
mol representation CPK 1.000000 0.300000 30.000000 20.000000
mol color Name
mol selection {all}
mol material Opaque
mol addrep top
mol representation Isosurface 0.0020000 1.000000 0.000000 0.000000
mol color Volume 0
mol selection {all}
mol material SemiTrans
mol addrep top
mol scaleminmax top 1 -0.010000 0.010000
mol rename top {Potencial Electrostatico Molecular Quercetina}
```

## Anexo D: Archivo de entrada para determinar las cargas parciales a partir del MEP en GAMESS.

```
$CONTRL SCFTYP=RHF RUNTYP=ENERGY EXETYP=RUN MAXIT=200 MULT=1 $END
$SYSTEM TIMLIM=525600 MEMORY=33554432 $END
$BASIS GBASIS=N311 NGAUSS=6 NDFUNC=1 NPFUNC=1 $END
$GUESS GUESS=HUCKEL $END
$SCF DIRSCF=.TRUE. $END
$ELPOT IEPOT=1 WHERE=PDC OUTPUT=BOTH $END
$PDC PTSEL=CONNOLLY CONSTR=NONE $END
$DATA
MEP cargas parciales Quercetina 6-311G**
C1
C 6.0 -4.34838 -0.92385 -0.00428
C 6.0 -3.76117 0.32171 0.00577
C 6.0 -2.35926 0.44493 0.00341
C 6.0 -1.59693 -0.72414 -0.00897
C 6.0 -2.16048 -1.97887 -0.01902
C 6.0 -3.54282 -2.05742 -0.01640
C 6.0 -1.69008 1.71372 0.01244
C 6.0 -0.24284 1.69878 0.00787
C 6.0 0.45501 0.55571 -0.00390
C 6.0 1.90724 0.34878 -0.00812
C 6.0 2.80390 1.41574 -0.05095
C 6.0 4.16895 1.17428 -0.05445
C 6.0 4.64296 -0.11846 -0.01508
C 6.0 3.76009 -1.18536 0.02766
C 6.0 2.40618 -0.95758 0.03069
O 8.0 -0.23796 -0.63676 -0.01142
O 8.0 -2.28412 2.81273 0.02479
O 8.0 4.22205 -2.47567 0.06720
O 8.0 5.97872 -0.46086 -0.01437
O 8.0 0.35821 2.93071 0.01764
O 8.0 -4.08021 -3.30827 -0.02634
O 8.0 -4.56695 1.40399 0.01796
H 1.0 -5.41507 -0.99034 -0.00234
H 1.0 -5.02578 -3.33973 -0.02461
H 1.0 -4.09538 2.23525 0.02429
H 1.0 -0.29356 3.62416 0.03039
H 1.0 6.58329 0.26483 -0.04350
H 1.0 5.16836 -2.52849 0.06153
H 1.0 1.75307 -1.79831 0.06304
H 1.0 4.85520 1.99649 -0.08774
H 1.0 2.44635 2.41724 -0.08007
H 1.0 -1.56021 -2.85916 -0.02855
$END
```



## Anexo E: Archivo de entrada para minimización de la Quercetina en NAMD.

```
# Minimizacion
set outputname quercetina
firsttimestep 0
temperature 0
# Input
amber on
parmfile quercetina.prmtop
ambercoor quercetina.inpcrd
# Force-Field
exclude scaled1-4
1-4scaling 1.0
cutoff 12.0
switching on
switchdist 10.0
pairlistdist 13.5
# Output
outputName $outputname
restartfreq 1000000
dcdfreq 100
outputEnergies 200
outputPressure 200
minimize 10000
```

## Anexo F: Generación de archivos de coordenadas y parámetros del sistema Quercetina + 3H<sub>2</sub>O, con el campo de fuerzas GAFF.

Los siguientes comandos deben ser ejecutados en el programa Leap del paquete Amber Tools. El archivo quercetina\_3w.mol2 contiene la información de las coordenadas nucleares de la Quercetina y las moléculas de agua. Los archivos quercetina.frcmod y quercetina.lib contienen los parámetros y cargas parciales de la Quercetina generados siguiendo el procedimiento de la Ref. [42]

```
source leaprc.ff99SB
source leaprc.gaff
QUE = loadmol2 quercetina_3w.mol2
loadamberparams quercetina.frcmod
loadoff quercetina.lib
saveamberparm QUE quercetina_3w.prmtop quercetina_3w.inpcrd
savepdb QUE quercetina_3w.pdb
quit
```

## Anexo G: Archivo de configuración de simulaciones de dinámica molecular en NAMD.

```
# Minimizacion, calentamiento y equilibración
set outputname quewat1_1
firsttimestep 0
# Input
amber on
parmfile quercetina_3w.prmtop
ambercoor quercetina_3w.inpcrd

exclude scaled1-4
1-4scaling 1.0
cutoff 12.
switching on
switchdist 10.
pairlistdist 13.5

# Parametros de integracion
timestep 0.5 ;# 0.5fs/step
rigidBonds water
nonbondedFreq 1
fullElectFrequency 1
stepspercycle 10

# Control de temperatura
temperature 0
reassignFreq 50
reassignIncr 0.2
reassignHold 300

# Output
outputName $outputname
restartfreq 1000000
dcdfreq 100
outputEnergies 200
outputPressure 200
# Condiciones de frontera esfericas para evitar la difusión de las moléculas
sphericalBC on
sphericalBCcenter 0.455, 0.556, 0.000
sphericalBCr1 20.0
sphericalBCk1 10
sphericalBCexp1 2

minimize 1000

run 2200000 ; # 0.1 ns calentamiento 1.0 ns equilibracion
```

## Anexo H: Script para visualización de las interacciones Quercetina- $O_2$ en VMD

```

mol new {queoxy.pdb} type pdb waitfor all
animate delete all
mol addfile {queoxy.dcd} type dcd waitfor all
# Macros de seleccion
atomselect macro oxy1 {index 33}
atomselect macro oxy2 {index 34}
atomselect macro oxy3 {index 35}
atomselect macro oxy4 {index 36}
atomselect macro oxy5 {index 37}
atomselect macro oxy6 {index 38}
atomselect macro naox1 {oxy1 within 5 of resname QUE}
atomselect macro naox2 {oxy2 within 5 of resname QUE}
atomselect macro naox3 {oxy3 within 5 of resname QUE}
atomselect macro naox4 {oxy4 within 5 of resname QUE}
atomselect macro naox5 {oxy5 within 5 of resname QUE}
atomselect macro naox6 {oxy6 within 5 of resname QUE}
mol representation VDW 1.000000 20.000000
mol color Name
mol material Opaque
mol selection {naox1}
mol addrep top
mol representation VDW 1.000000 20.000000
mol color Name
mol material Opaque
mol selection {naox2}
mol addrep top
:
mol representation VDW 1.00000 20.000000
mol color Name
mol material Opaque
mol selection {naox6}
mol addrep top
mol representation VDW 1.000000 20.000000
mol color Name
mol material Opaque
mol selection {resname QUE}
mol addrep top
# Calcular las selecciones para cada cuadro
set molid 0
set n [molinfo $molid get numreps]
for {set i 0} {$i < $n} {incr i} {
mol selupdate $i $molid on
mol smoothrep $molid $i 2
}
animate goto start

```

# Bibliografía

- [1] Nordberg J. & Arnér E., Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biology & Medicine*, **31**, 1287-1312 (2001).
- [2] Floyd, R., en *Free Radicals in Aging*, Byung P. Ed., (CRC Press, Boca Raton, 1993), "Basic Free Radical Biochemistry", pp. 39-55.
- [3] Sies, H., en *Oxidative Stress*, Sies H. Ed., (Academic Press, London, 1985), "Oxidative Stress: Introductory Remarks", pp. 1-8.
- [4] E. Cadenas, L. Packer, Eds., *Handbook of Antioxidants* (Marcel Dekker, New York, 2002).
- [5] Finkel T. & Holbrook N., Oxidants, oxidative stress and the biology of aging. *Nature*, **408**, 239-247 (2000).
- [6] Pratt, D. E. & Hudson, B. J. en *Food Antioxidants*, Elsevier, Eds., (Elsevier Applied Science, London, 1990), "Natural Antioxidants Not Exploited Commercially", pp. 171-192.
- [7] Kandaswami C. & Middleton E. en *Free Radicals in Diagnostic Medicine*, Armstrong D. Ed., (Plenum Press, New York, 1994), "Free radical scavenging and antioxidant activity of plant flavonoids", pp. 351-375.
- [8] Bors, W., Michel C. & Heller W. en *Free Radicals, Oxidative Stress, and Antioxidants, Pathological and Physiological Significance*, Özben T. Ed., (Plenum Press, New York, 1998), "Flavonoid Radicals", pp. 85-92.
- [9] Vermerris W. & Nicholson R., *Phenolic Compound Biochemistry* (Springer, Dordrecht, 2006).
- [10] Marais, J., Deavours, B., Dixon R. A. & Ferreira, D. en *The Science of Flavonoids*, E. Grotewold Ed., (Springer, New York, 2006), "The Stereochemistry of Flavonoids", pp. 1-46.

- [11] Bors W., Werner H., Michel C. & Saran M. Flavonoids as antioxidants: determination of radical-scavenging efficiencies. *Methods in enzymology*, **186**, 343-355 (1996).
- [12] Hudson B. J. F. & Lewis J. I. Polyhydroxy Flavonoid Antioxidants for Edible Oils. Structural Criteria for Activity. *Food Chemistry*, **10**, 45-55 (1983).
- [13] Rezk B. M., Haenen G. R. M. M., van der Vijgh W. J. F. & Bast A. The antioxidant activity of phloretin: the disclosure of a new antioxidant pharmacophore in flavonoids. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **295**, 9-13 (2002).
- [14] Rice-Evans C. A., Miller N. J. & Paganga G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology & Medicine*, **20**, 933-956 (1996).
- [15] Kanner J., en *Natural Antioxidants and Anticarcinogens in Nutrition, Health and Disease*, J. T. Kumpulainen and J. T. Salonen Eds., (Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1999), "Antioxidant potency and mode of action of flavonoids and phenolic compounds", pp. 114-123.
- [16] Levine, I. N., *Química Cuántica* (Pearson Educación, Madrid, 2001).
- [17] Szabo A. & Ostlund N. S., *Modern Quantum Chemistry* (McGraw-Hill, New York, 1989).
- [18] Cramer C. J., *Essentials of Computational Chemistry, Theories and Models* (John Wiley & Sons, Chinchester, 2004).
- [19] Mishra P. C., Kumar A. Molecular electrostatic potentials and fields: hydrogen bonding, recognition, reactivity and modeling, *Theoretical and Computational Chemistry*, **3**, 257-296 (1996).
- [20] Schmidt M. W., Baldrige K.K., Boatz J.A., Elbert S. T., Gordon M. S., Jensen J. H., Koseki S., Matsunaga N., Nguyen K. A., Su S. J., Windus T. L., Dupuis M., & Montgomery J. A. "General Atomic and Molecular Electronic Structure System" *J. Comput. Chem.* **14**, 1347-1363 (1993).
- [21] Leach A., *Molecular modelling principles and applications* (Pearson Education, London, 2001)
- [22] Haile J. M., *Molecular dynamics simulation: elementary methods* (Wiley, New York, 1992).

- [23] MacKerell A. D., en *Computational Biochemistry and Biophysics*, Becker O. M., MacKerell A. D., Roux B., & Watanabe M. Eds., (Marcel Dekker, New York, 2001), “*Atomistic Models and Force Fields*”, pp. 7-38.
- [24] Hand L. N. & Finch J. D., *Analytical Mechanics* (Cambridge University Press, Cambridge, 1998).
- [25] Wang J., Wolf R., Caldwell J., Kollman P. & Case D., “Development and testing of a General Amber Force Field” *J. Comput. Chem.* **25**, 1157-1174 (2004).
- [26] Becker O. M. & Watanabe M., en *Computational Biochemistry and Biophysics*, Becker O. M., MacKerell A. D., Roux B., & Watanabe M. Eds., (Marcel Dekker, New York, 2001), “*Dynamics Methods*”, pp. 39-68.
- [27] Phillips J., Braun R., Wang W., Gumbart J., Tajkhorshid E., Villa E., Chipot C., Skeel R., Kale L. & Klaus Schulten. Scalable molecular dynamics with NAMD. *Journal of Computational Chemistry*, **26**, 1781-1802 (2005).
- [28] Phillips J., Isgro T., Sotomayor M. & Villa E. 2007. NAMD TUTORIAL. Unix Version. University of Illinois. NIH Resource for Macromolecular Modelling and Bioinformatics Beckman Institute.
- [29] Research Collaboratory for Structural Bioinformatics. The RCSB protein data bank. <http://www.rcsb.org/pdb/> (2005).
- [30] Humphrey, W., A. Dalke & K. Schulten. VMD – Visual Molecular Dynamics. *J. Mol. Graphics* **14**, 33 (1996).
- [31] VanBesien E. & Marques M. P. M. Ab initio conformational study of caffeic acid. *Journal of Molecular Structure*, **625**, 265-275 (2003).
- [32] Gómez-Zavaglia A. Quantum chemical calculations in the structural analysis of phloretin. *Journal of Molecular Structure*, **930**, 187-194 (2009).
- [33] Avogadro: an open-source molecular builder and visualization tool. Version 1.0.0. <http://avogadro.openmolecules.net/>
- [34] Meyer M. Ab initio study of flavonoids. *International Journal of Quantum Chemistry*, **76** 724-732 (2000).
- [35] Sharma D., Gupta V. K., Brahmachari G., Mondal S. & Gangopadhyay A. X-ray study of weak interactions in two flavonoids. *Bull. Mater. Sci*, **30**, 469-475 (2007).

- [36] [http://chemwiki.ucdavis.edu/Wikitexts/UCD\\_Chem\\_2A/ChemWiki\\_Module\\_Topics/Chemical\\_Bonding/Electrostatic\\_Potential\\_maps](http://chemwiki.ucdavis.edu/Wikitexts/UCD_Chem_2A/ChemWiki_Module_Topics/Chemical_Bonding/Electrostatic_Potential_maps)
- [37] Bode, B. M. & Gordon, M. S. *J. Mol. Graphics Mod.*, **16**, 133-138 (1998).
- [38] Wang, J. Antechamber, Univ. of Texas, Southwestern Medical Center.
- [39] Trouillas P., Marsal P., Siri D., Lazzaroni R. & Duroux J. A DFT study of the reactivity of OH groups in quercetin and taxifolin antioxidants: The specificity of the 3-OH site. *Food Chemistry*, **97**, 679-688 (2006).
- [40] van Acker S., de Groot M. J., van der Berg D.J., Tromp M. N., den Kelder G., van der Vijgh W. J. F. & Bast A. A quantum chemical explanation of the antioxidant activity of flavonoids. *Chem. Res. Toxicol*, **9**, 1305-1312 (1996).
- [41] Aparicio S. A systematic Study on Flavonoids. *Int. J. Mol. Sci.*, **11**, 2017-2038 (2010).
- [42] Walker R. & Tang S. Simulating a pharmaceutical compound using antechamber and the Generalized Amber Force Field. <http://ambermd.org/tutorials/>.
- [43] <http://structbio.vanderbilt.edu/archives/amber-archive/2009/5110.php>
- [44] Erkoç S., Erkoç F. & Keskin N. Theoretical investigation of quercetin and its radical isomers. *Journal of Molecular Structure*, **631**, 141-146 (2003).
- [45] Hehre W. J., Radom L., Schleyer P. & Pople J., *AB INITIO Molecular Orbital Theory* (Wiley-Interscience, New York, 1986).
- [46] Chang R., *Chemistry* (McGraw-Hill, New York, 2006).
- [47] Rahim Z. & Barman B. N., The van der Waals criterion for hydrogen bonding, *Acta Cryst.*, **A34**, 761-764 (1978).