



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**ESTUDIO TEÓRICO DE LA REPARACIÓN DE GUANOSINA CON
ANTIOXIDANTES FENÓLICOS**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUIMICO

PRESENTA

ADRIÁN CERVANTES ORTEGA



Ciudad Universitaria, Cd. Mx. AÑO 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesor: Francisco Miguel de Jesús Castro Martínez

VOCAL: Profesor: J. Jesús Hernández Trujillo

SECRETARIO: Profesor: Juan Raúl Álvarez Idaboy

1er. SUPLENTE: Profesor: José Antonio Arcos Casarrubias

2do. SUPLENTE: Profesor: Norma Angélica Macías Ruvalcaba

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: UNAM, FACULTAD DE QUÍMICA,
DEPARTAMENTO DE FÍSICA Y QUÍMICA TEÓRICA.**

ASESOR DEL TEMA: JUAN RAÚL ÁLVAREZ IDABOY.

SUSTENTANTE: ADRIÁN CERVANTES ORTEGA.

Agradecimientos.

Agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de México, UNAM, así como a la Facultad de Química por la educación brindada, disposición de su personal, instalaciones y la oportunidad de formar parte de ella.

Gracias al tiempo de cómputo proporcionado por LANCAD y CONACYT en la supercomputadora Miztli en el proyecto “Estudio químico cuántico de reacciones radical molécula relacionadas con el estrés oxidativo”. Junto a la dirección General de Cómputo y de Tecnologías de la Información y Comunicación DGTIC, de la UNAM para realizar esta investigación.

Investigación realizada gracias al programa UNAM-PAPIIT IN-220215

Índice

Introducción.....	1
Antecedentes.....	3
1 ADN.....	3
2 Especies reactivas de oxígeno y antioxidantes.....	5
3 Daño al ADN.....	11
3.1 Daño Indirecto.....	12
3.2 Daño Directo.....	13
3.3 Estudios de daño al ADN.....	13
4 Reparación del ADN.....	17
Marco teórico.....	20
5 Química Computacional.....	20
6 Química Cuántica.....	21
6.1 Aproximación de Born-Oppenheimer.....	22
6.2 Principio Variacional.....	23
6.3 Funciones Base.....	24
7 Teoría de los funcionales de la densidad.....	29
7.1 Teoremas de Hohenberg y Khon.....	29
7.2 Metodología de campo auto-consistente de Kohn-Sham.....	30
7.3 Funcionales de Intercambio y correlación.....	32
7.4 Funcional M05-2X.....	33
7.5 Métodos de solvente: SMD ⁴⁴	34
8 Cinética Química.....	36
8.1 Teoría del Estado de Transición (TST).....	37
8.2 Teoría de Transferencia electrónica.....	40
Objetivos.....	42
9 Objetivos generales.....	42
9.1 Objetivos particulares.....	42
Metodología.....	43
10 QM-ORSA.....	43
11 Cálculos computacionales.....	44
11.1 Moléculas de estudio HAT.....	45

11.2 Moléculas de estudio SET.....	46
11.3 Cálculo de constantes de velocidad	48
11.4 Consideración del pH fisiológico.	50
Resultados.....	51
12 Efecto del pH.	51
12.1 Fracción molar para las especies antioxidantes.....	51
13 Estructuras optimizadas.....	54
14 Análisis termodinámico de las reacciones de reparación.	58
14.1 Reparación por mecanismo HAT	58
14.2 Reparación por mecanismo SET	61
15 Constantes de velocidad de la reparación.....	65
15.1 Reparación del radical G [•]	65
15.2 Reparación del catión radical G ^{•+}	66
Conclusiones.....	68
Referencias	69

Introducción.

El ácido desoxirribonucleico (ADN) es una molécula que posee la información genética en todos los seres vivos conocidos. Debido a la importancia de esta estructura, estudios recientes en áreas de química y biología han enfocado los esfuerzos a reconocer la causa de los daños en la estructura, consecuencia de ellos y métodos de prevención, así como de reparación.¹

Las principales causas de daño al ADN se derivan de la radiación ionizante, ya sea por daño directo sobre la cadena u oxidación de las moléculas de agua contiguas que forman especies reactivas de oxígeno, las cuales posteriormente oxidan al ADN. Estas especies reactivas de oxígeno (ROS), son uno de los factores de daño al ADN, principalmente el radical hidroxilo (OH^*), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), ozono (O_3) y derivados² son resultantes del proceso de estrés oxidativo que ocurre en nuestro metabolismo como consecuencia de capturar la energía necesaria para mantener en orden las estructuras celulares.³

Tanto las ROS, como la radiación ionizante, tienen la capacidad de producir una modificación molecular (daño) en el ADN, específicamente a través de la formación de radicales libres en sitios específicos de la estructura del nucleótido debido a la oxidación de las bases nitrogenadas, estos radicales si no son estabilizados rápidamente pueden llevar a daños permanentes en la estructura del ácido desoxirribonucleico.^{4,5} Es por ello que adquiere gran importancia el estudio de los mecanismos de reparación enzimáticos y no enzimáticos que previenen o reparan el daño que se genera como consecuencia de los procesos metabólicos y agentes externos.

El estudio en esta tesis está enfocado en los mecanismos de reparación no enzimáticos, los cuales poseen un carácter químico que involucran reacciones moleculares que eliminan la presencia de los radicales libres que se forman sobre la cadena lateral de ribosa.

La reparación se lleva a cabo mediante reacciones químicas en donde las moléculas antioxidantes que tienen la capacidad de donar un átomo de hidrógeno o compartir

un electrón, estabilizan la cadena de ADN eliminando la presencia de los radicales. Estas reacciones químicas pueden ser descritas por un par de mecanismos denominados Transferencia de átomo de hidrógeno (HAT) y Transferencia de un electrón (SET).

Este estudio teórico del daño a un fragmento de ADN se realizó principalmente sobre la base nitrogenada Guanosina, debido a que de las 4 bases que contiene el ADN, es la que ha mostrado una oxidación mayor,⁶ por lo que al ser la más susceptible a perder un electrón, es más probable que la formación de radicales ocurra sobre ella, pudiendo estudiar así una reparación. El tipo de moléculas reparadoras a utilizar son antioxidantes con capacidad de donar el átomo de hidrógeno necesario para estabilizar la modificación que ocurre, por lo que se proponen moléculas derivadas y análogas al fenol.

Antecedentes

1 ADN.

Los ácidos nucleicos son sustancias que contienen la información genética de los seres vivos y se encargan del resguardo, transmisión y procesamiento de esta información. Están presentes en el núcleo de las células y forman cadenas de cientos de miles de bases.⁶

La jerarquía estructural en la que se puede describir la composición de los ácidos nucleicos es la siguiente (Figura 1):

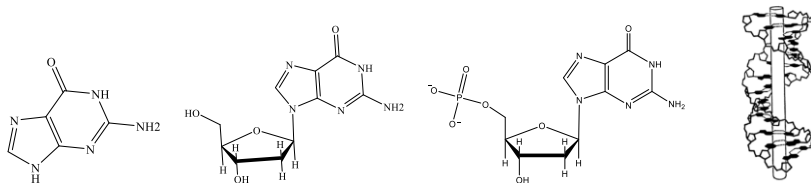


Fig. 1 Bases nitrogenadas < nucleosidos < nucleótidos < ácido nucleico

El ADN es uno de los poli nucleótidos más importantes, esta especie está compuesta por una base nitrogenada enlazada a una molécula de desoxirribosa para formar un nucleosido, que a su vez está unida covalentemente a un grupo fosfato formando un nucleótido, pudiendo ser la base nitrogenada una purina o pirimidina.⁷

Las bases nitrogenadas que contiene al ADN son la Adenina (A), Guanina (G), Citosina (C) y Timina (T), de las cuales, como se muestra en la figura 2, las primeras dos se derivan de la estructura de la purina y las dos siguientes de la estructura de la pirimidina.

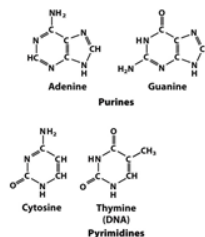


Figura 2. Bases nitrogenadas del ADN⁸

Fue en el año de 1953, que Watson y Crick⁸ descubrieron la estructura del ADN, basados en los trabajos de Rosalind Franklin y Maurice Wilkins los cuales utilizaron la técnica de difracción de rayos x sobre fibras de ADN para obtener un patrón de difracción, y junto con los descubrimientos de Chargaff, que había descrito las equivalencias entre las bases nitrogenadas, en las que Adenina se aparea con Timina y Citosina con Guanina, por lo que propusieron la estructura final y hasta ahora aceptada del ácido desoxirribonucleico.

Esta estructura molecular se mantiene en todos los organismos solo variando la composición de sus bases, adoptando una geometría de doble hélice, en la cual las bases se aparean a través de interacciones de puentes de hidrógeno y están ligadas entre ellas por un enlace fosfodiéster entre el carbono 5' del primer nucleótido y el carbono 3' del siguiente, y puede ser observada en la figura 3.

Al ser de vital importancia, y estar expuesta a la variación de su entorno, las posibles modificaciones a su estructura van desde formación de radicales libres en sitios específicos, entrecruzamiento de pares de bases, hasta rompimiento de cadena o cadenas debido a reacciones químicas que ocurren sobre ella a causa de agentes externos, como pueden ser especies reactivas de: oxígeno, nitrógeno o carbonilo, radiación ionizante, productos de la peroxidación lipídica, o agentes alquilantes.⁹

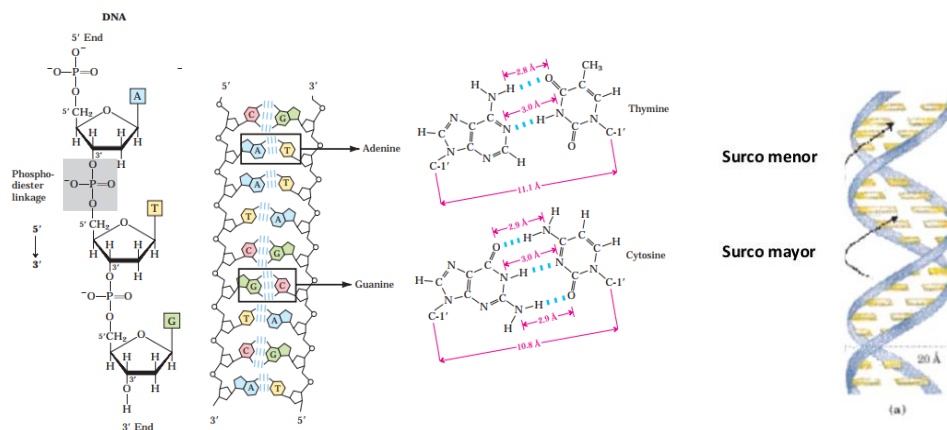


Figura 3. Representación esquemática de la composición del ADN, apareamiento de bases y estructura en 3 dimensiones.⁸

2 Especies reactivas de oxígeno y antioxidantes.

La oxidación de moléculas a nivel celular es causada por procesos metabólicos del oxígeno molecular en el aprovechamiento de alimentos dentro del cuerpo humano¹⁰, estos procesos de oxidación desempeñan un rol principal en la obtención de energía útil en las actividades cotidianas.

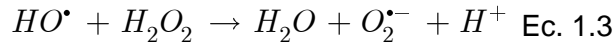
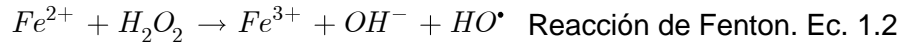
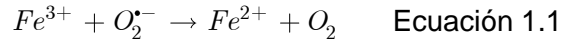
De esta manera el hecho de que dentro de nosotros ocurran reacciones químicas de oxidación es inevitable; sin embargo, como productos secundarios de estas reacciones tenemos a las ROS (Reactive Oxygen Species), entre las cuales se encuentran el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), oxígeno singulete (1O_2), y varios radicales libres tales como el radical hidroxilo (OH^\bullet) y el radical libre superóxido ($O_2^{\bullet-}$). Todas las especies derivadas del oxígeno son altamente oxidantes y electrófilas (de ahí su nombre), son inestables y reaccionan de una manera no específica con la mayoría de las moléculas biológicas por lo que pueden dañar las células, ya sea por oxidación directa o iniciando una cadena de reacciones que resultan en peroxidación lipídica u oxidación al ADN y proteínas¹¹.

Para evitar la propagación de estas especies, existen moléculas denominadas antioxidantes, las cuales, como su nombre lo indica, reaccionan con las ROS para prevenir y retardar el daño que provocan, también pueden prevenir la formación de dichas especies reactivas o reparar el daño ocasionado por ellas. Sin embargo, las ROS no son únicamente perjudiciales, participan en procesos de señalización, como mensajeros, al igual que como metabolitos regulatorios de distintos sistemas necesarios para la supervivencia de las células¹², también ayudan a mejorar su resistencia al estrés oxidativo. Se ha reportado que las especies reactivas de oxígeno tienen un papel importante en la defensa contra ambiente microbiano y en la regulación de funciones de las células vasculares y cardíacas.¹³

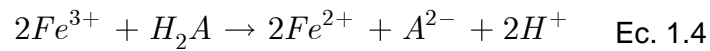
Tabla 1. Tipos de especies reactivas de oxígeno

Nombre	Formula	Actividad
Radical anión superóxido	$O_2^{\bullet-}$	Estado reducido del oxígeno producido por la cadena de transporte de electrones y es el principal responsable de la formación del H_2O_2 .
Radical hidroxilo	HO^{\bullet}	Radicales altamente reactivos causantes del mayor daño a las células biológicas.
Peróxido de hidrógeno	H_2O_2	Moléculas capaces de penetrar la membrana lipídica, su función es de señalización. Puede reaccionar con otras moléculas para formar OH^{\bullet} .
Peróxinitrito	$ONOO^-$	Son producidas cuando moléculas de O_2^- reaccionan con NO, causan rompimiento homolítico que forma radicales OH y dióxido de nitrógeno.
Radicales alcoxi- y peroxi-	RO^{\bullet} ROO^{\bullet}	Radicales poco reactivos que, si no son reparados, pueden continuar con una cadena de propagación.

Cuando ocurre daño oxidativo sobre organelos o moléculas biológicas, se le denomina estrés oxidativo y es causado por un desbalance entre la producción de ROS y degradación de estas. Usualmente involucran reacciones de radicales libres y moléculas de gran importancia biológica, teniendo como consecuencia enfermedades tales como: diabetes, Parkinson, cáncer, Alzheimer, artritis.¹⁴ Se asocia este incremento de daño oxidativo a la reacción de Fenton, que es parte del ciclo de Haber-Weiss¹⁵. ($pK_a\ H_2O_2=4.77$)¹⁶



Este ciclo ocurre por la reducción del catión férrico, seguida de la reacción de Fenton, que produce radicales los altamente reactivos OH^{\bullet} debido a la reducción por un electrón (*one-electron reduction*) del peróxido de hidrógeno. El radical superóxido es recuperado por el consumo de otro mol de peróxido de hidrógeno, o producido por el cuerpo, mientras que el catión férrico es nuevamente reducido para continuar el ciclo. El hierro actúa como un catalizador únicamente. Se ha descubierto otro mecanismo, por el cual el catión Fe^{2+} , culpable del daño oxidativo, es producido a partir de la reducción del catión Fe^{3+} dentro del cuerpo humano, y es por la formación de complejos de coordinación con moléculas antioxidantes como el ácido ascórbico.^{16,17} Lo anterior puede ser representado mediante la siguiente reacción¹⁷.



Así las cosas, a pesar que la formación de $Fe(II)$ no es proporcional a la concentración de ácido ascórbico, se encontró que la presencia del ácido sí tiene un efecto indirecto debido a la quelación con el ion metálico.¹⁷ Aunque existe esta contribución de los antioxidantes al ciclo de Haber-Weiss, han sido más sus propiedades reportadas en contra del estrés oxidativo y en general en efectos benéficos en la salud humana, especialmente en aquellas enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo.¹⁴

Una de las consecuencias del estrés oxidativo es la auto oxidación de lípidos debido a la acción del oxígeno singulete (1O_2), producido por catálisis de un metal o exposición a la luz y por esa especie inicia una cadena de reacciones con radicales libres que se propagan entre ellas, dañando especies cercanas.

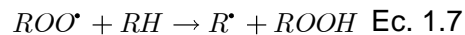
La cadena de reacciones sigue el mecanismo¹⁰ presentado a continuación y puede ser interrumpido por especies antioxidantes o en la terminación del ciclo de propagación.

R= COOH-(CH₂)_n-CH₂

Iniciación.

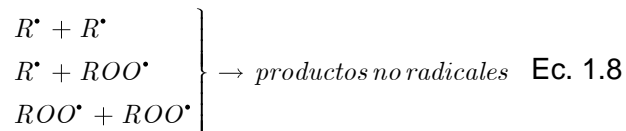


Propagación.



Puede continuar

Terminación

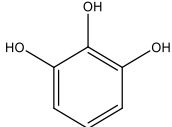
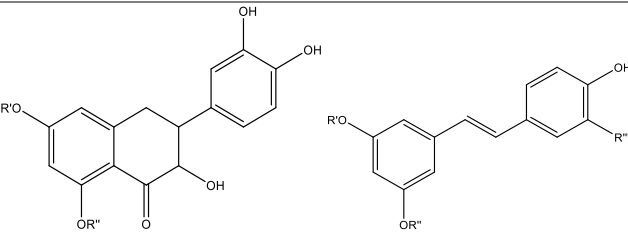
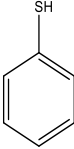
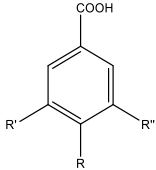
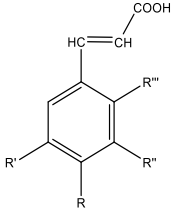


Los antioxidantes que tienen el rol importante de detener el estrés oxidativo tienen distintas maneras de ser clasificados. Por su origen si es dentro o fuera del cuerpo, ya que estos pueden ser endógenos como puede ser el glutatión o exógenos por ejemplo el ácido ascórbico. Por su mecanismo de actividad los cuales pueden ser enzimáticos como la enzima catalasa y no enzimáticos como los catecoles. Por su estructura entre los que se encuentran los fenólicos, flavonoides, stilbenos, derivados del ácido benzoico o del ácido hidroxicinámico. También pueden ser clasificados por su actividad, de la cual existen 2 tipos e incluso algunas moléculas pueden presentar ambos tipos de actividad.

El tipo I, antioxidantes directos o interruptores de cadena, este tipo de antioxidantes actúa directamente sobre las especies radicalarias interrumpiendo la propagación y la oxidación provocada por especies con radicales libres, básicamente tienen una función neutralizadora y producen especies mucho menos reactivas.

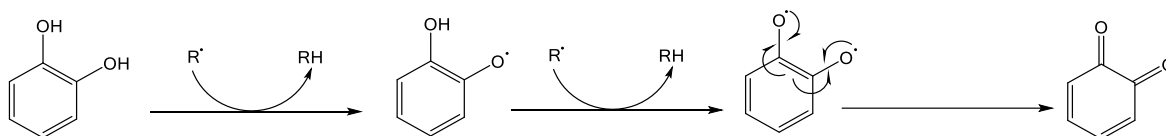
El tipo II son aquellos antioxidantes que retrasan o interrumpen procesos generadores de ROS o especies con radicales libres en procesos como quelación de metales, descomposición de peróxidos, reparación de radicales tipo I, desactivación de 1O_2 y absorción de radiación UV.¹⁴

Tabla 2. Estructuras de los antioxidantes fenólicos y ácidos, capaces de actuar como tipo I y tipo II.

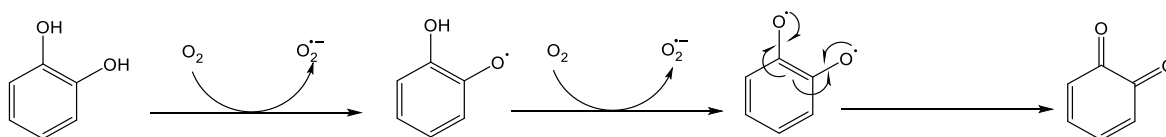
Nombre	Estructura general
Polifenólicos	
Stilbenos y Flavonoides	
Tiofenólicos	
Derivados del ácido benzoico	
Derivados del ácido hidroxicinámico	

Estas especies antioxidantes pueden reaccionar de maneras diferentes para cumplir su función de detener el estrés oxidativo o reparar el daño producido por este según sea el caso, ejemplo:

Efecto directo. Ec. 1.9



Efecto pro-oxidante. Ec. 1.10



En las ecuaciones 1.9 y 1.10 se observa la función antioxidante y pro-oxidante de las moléculas utilizando el catecol.

3 Daño al ADN

Como ya se ha mencionado, el ADN es susceptible a modificaciones en su estructura debido a la interacción con su entorno, está expuesto a especies altamente reactivas, las cuales oxidan la cadena formando distintas especies sobre ella, como lo son “huecos” (sitios que pierden un átomo de hidrógeno y dejando un electrón desapareado) o los aductos entre las bases y otras especies.

Debido al potencial de ionización de las distintas bases que conforman la cadena de ADN, el “hueco” (catión radical) formado debido a la oxidación, llega a la base de menor potencial de ionización, la guanina.

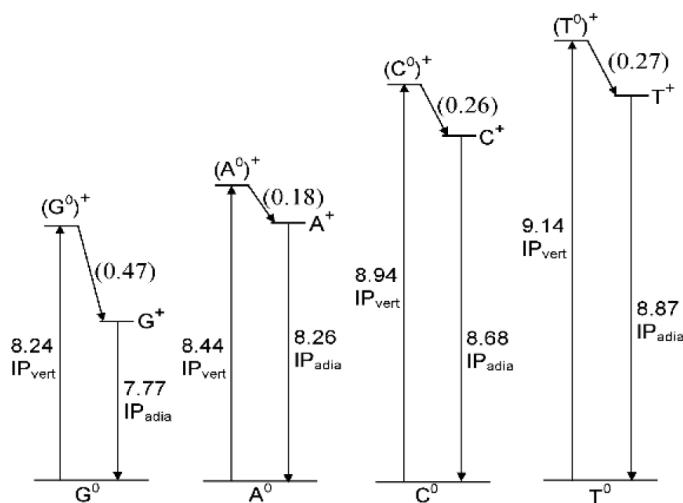


Figura 4. Potencial de ionización adiabático y vertical para las bases nitrogenadas del ADN medidas experimentalmente.⁶

La formación de este “hueco” es decir la pérdida de un electrón, lleva a la subsecuente pérdida de un protón, exponiendo la cadena a modificaciones estructurales con consecuencias en la integridad genómica de la información del ADN.

Con la finalidad de catalogar el origen de este daño, se ha clasificado en 2 grupos:

3.1 Daño Indirecto.

Como se mencionó en el capítulo anterior, las especies reactivas de oxígeno y especies con radicales libres, interactúan no específicamente con moléculas de importancia biológica, teniendo como consecuencia el daño sobre la cadena de ADN, el cual sólo puede ser reparado por vías enzimáticas, químicas o en ciertos casos no ser reparado y se lleve a la degradación de la cadena para formar una nueva.

Cuando las ROS atacan el ADN, los principales productos de esta reacción son la formación de radicales en sus bases y en la porción de la ribosa. Las principales especies relacionadas con este daño son el radical hidroxilo (OH^\bullet) que forma aductos con las bases como Guanosin8OH¹⁸, produce apertura de los anillos y radicales alílicos.

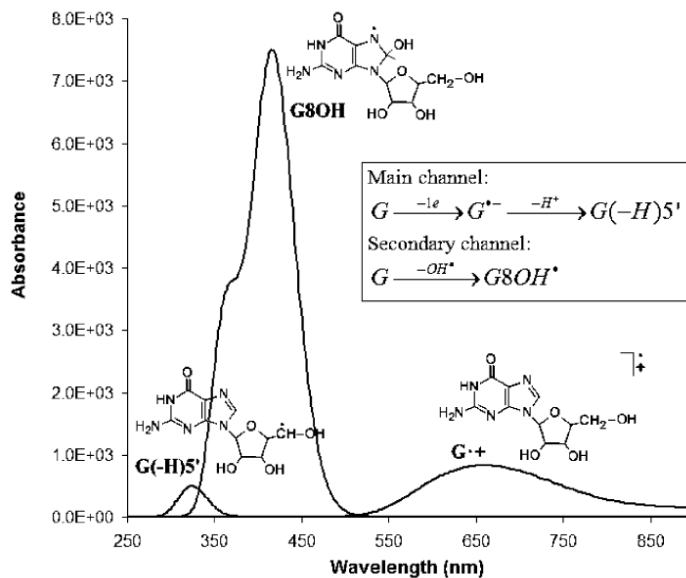


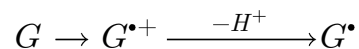
Figura 5. Espectro UV e interpretación para el mecanismo de oxidación de la Guanosina con OH^\bullet . G (guanina)¹⁸

3.2 Daño Directo.

El daño directo es causado por la incidencia de radiación ionizante sobre la cadena de ADN. Esta radiación ionizante induce la formación de huecos sobre la cadena de ADN que llevan a la desprotonación del azúcar del ADN.

Como su nombre lo indica, este daño se produce por la ionización de cada componente del ADN (bases, azúcar, fosfato) al igual que las moléculas de agua que la rodean y como consecuencia produce una cascada de electrones secundarios llamados electrones de baja energía (low-energy electrons LEE) que producen rompimiento de cadenas simples y dobles cuando no son capturados por las pirimidinas o atrapados por una carga positiva.⁶

Ecuación 1.11. Mecanismo de daño a la guanosina.



3.3 Estudios de daño al ADN

De cualquier modo en el que la molécula de ADN es dañada, el sitio más probable en donde ocurra el daño es en la Guanina, produciendo un catión radical $G^{\bullet+}$ que posteriormente llevará a la pérdida de un protón sobre la base Guanina y dejando un radical neutro que termina deslocalizado, dando como resultado la especie G^{\bullet} , en donde el radical se sitúa usualmente sobre la desoxirribosa o sobre la base.¹⁸

Se han realizado varios estudios tanto de carácter teórico como experimental para encontrar el sitio de formación de radicales sobre el nucleótido guanosina. Swarts et al. (2007)¹⁹ investigaron los mecanismos de daño por radiación al DNA, donde irradiaron placas de cadenas de ADN (oligodesoxinucleotido d(GCACGCGTGC)₂) con rayos X y midieron la formación de radicales sobre las bases y las porciones de azúcar mediante espectroscopia de masas acoplado con cromatografía de gases y cromatografía líquida de alta resolución, respectivamente.

Sus conclusiones establecen que el daño medido por radiación sobre el par de bases Guanina-Citocina (G:C), es de 349 nmol/J. El total de daño medido es significativo en cadenas con mayor cantidad de pares G:C debido a que son relativamente más susceptibles que Adenina-Timina (A:T). El daño a las bases respecto a la desoxirribosa es aproximadamente 3:1. Sin embargo el rendimiento proyectado de daño de radicales en la desoxirribosa es insuficiente para reportar el daño total a esta porción.

También, Khanduri et al (2008)²⁰ publicaron sus resultados sobre la formación de radicales de azúcar del RNA mediante procedimientos experimentales vía excitación del catión radical Guanina, así como cálculos teóricos de las especies radicales más estables, utilizando la teoría de funcionales de la densidad, el funcional B3LYP y la base 6-31G*.

El estudio experimental se realizó utilizando oligómeros de RNA, irradiados con luz ultravioleta y estudiando las muestras con la técnica de resonancia de espín electrónico.

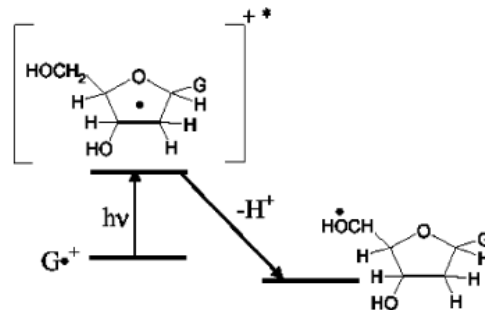


Figura 6. Ejemplo de la foto excitación del catión radical $G^{\bullet+}$ y la localización de un radical en el Carbono 5' ²⁰

Entre sus resultados concluyen que la presencia de fosfatos desactiva el sitio adyacente para la formación de un radical, es decir, los carbonos 3' y 5' de la desoxirribosa que se encuentran en una cadena, no pueden presentar la formación de radicales libres debido a la disponibilidad de electrones que presentan los mismos fosfatos. Además, la información espectroscópica sugiere la presencia del radical en C1' o C4', que está respaldada por los cálculos teóricos en donde la

especie más estable es el radical C4' en la conformación C2'-exo y el C1' en la conformación C2'-endo.

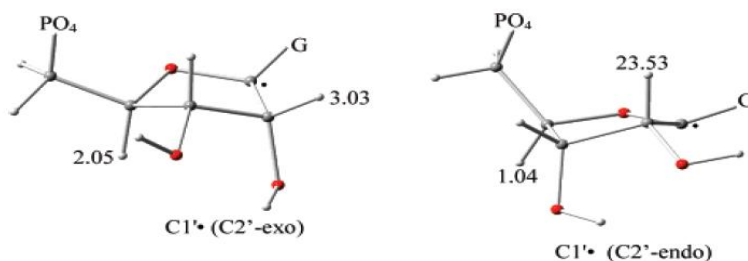


Figura 7. Estructuras para la configuración, exo y endo con radical situado en Carbono 1' estudiadas por Khanduri et al. ²⁰

En un estudio realizado por Galano y Álvarez (2012)²¹ analizaron, por métodos computacionales de carácter ONIOM los distintos productos de la desprotonación del catión radical G⁺ encontrando un orden de estabilidad en la formación de radicales neutros en los carbonos de la desoxirribosa, “siendo los más estables aquellos que se localizan sobre los carbonos C4' y C5', coincidiendo así con la hipótesis de que son los más susceptibles debido a la máxima exposición al solvente”.

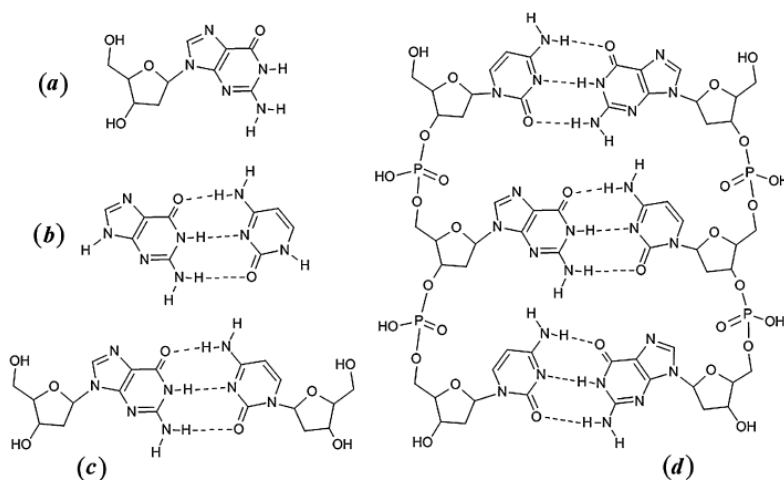


Figura 8. Modelos propuestos para el cálculo de estabilidad de los radicales neutros en la desoxirribosa. ²¹

El orden de estabilidad encontrado en el modelo (d) fue $C4'' > C5'' > C3'' > C1'' > C2''$.

Este orden se mantiene similar en (a), pero invirtiendo la estabilidad de los radicales en $C4''$ y $C5''$ debido a que no se considera la presencia del fosfato y el impedimento de reorganización por el apareamiento entre bases y el esqueleto de la cadena.

Tomando en cuenta las investigaciones hechas respecto al daño del ADN, se propone que uno de los sitios de formación de un radical libre corresponde al carbono 4' de la Guanosina, sitio que se muestra en la figura 9.

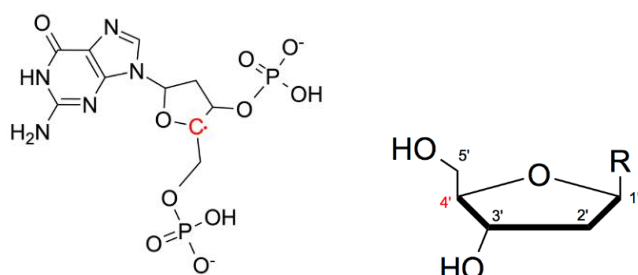


Figura 9. Sitio de formación de radical en la desoxirribosa del nucleótido Guanosina.

4 Reparación del ADN.

El daño al ADN ocurre por diversas fuentes y, en cada paso del proceso de daño, ocurren distintos mecanismos de reparación o prevención con la finalidad de que realice sus funciones biológicas adecuadamente.

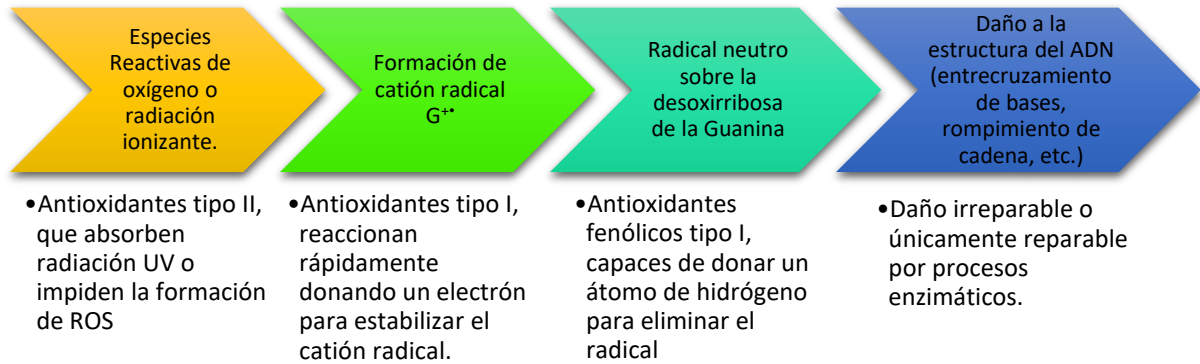


Figura 10. Esquema del proceso de daño al ADN y especies asociadas a su reparación o prevención.

Los mecanismos de reparación rápida para reacciones que involucran moléculas biológicas, como puede ser el ADN o aminoácidos, consisten en la neutralización de radicales libres debido a la acción de antioxidantes tipo I, ya sea donando un electrón, un protón (H^+), o un átomo de hidrógeno, de manera directa o secuencial. De manera general ocurre una transferencia formal de hidrógeno.

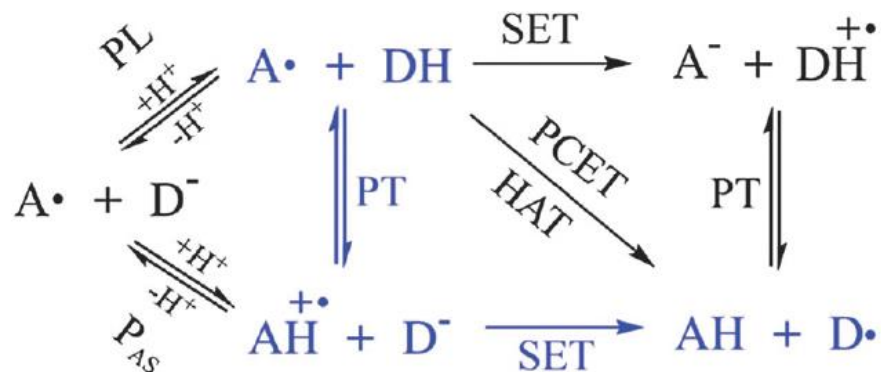


Figura 11. Mecanismos de reacciones de reparación.²²

Existen distintos caminos por los que puede ocurrir esta reparación como se muestra en la figura 11, como pueden ser la transferencia de un átomo de hidrógeno HAT (hydrogen atom transfer), transferencia de un electrón SET (single electron transfer), transferencia secuencial de protón-electrón PEST (Proton-electron sequential transfer), transferencia de protón-acoplado a electrón PCET (Proton-coupled electron transfer), transferencia secuencial electrón-protón EPST (Electron-proton sequential transfer) o pérdida de protón transferencia de electrón SPLET (Sequential proton-loss electron transfer), entre otros.²²

La diferencia entre los mecanismos de transferencia directos y la transferencia secuencial es la ocupación de los orbitales involucrados en especies reparadoras y aquellas con radicales libres, HOMO y los ocupados por un solo electrón SOMO, respectivamente, por lo que al ocurrir una transferencia directa se lleva a cabo un proceso electrónicamente adiabático, donde no hay redistribución de carga y los orbitales prácticamente no se ven modificados por la transferencia de un átomo de hidrógeno; en cambio al ocurrir la transferencia de un electrón se puede asociar a un proceso secuencial.

Existe un proceso electrónicamente no adiabático donde los orbitales SOMO que se encuentran en la especie dañada se ven modificados por la donación de un electrón lo que provoca una redistribución de carga por el apareamiento entre electrones.^{23,24}

En el caso del ADN, como se muestra en la figura 10, las especies formadas por el daño oxidativo de ROS y LEE son el catión radical $G^{+\bullet}$ y $G^{\bullet}(-H^+)$ por lo que los mecanismos propuestos para evitar que el daño se propague son de transferencia directa y se reducen a SET y HAT, ya que los radicales formados sobre la ribosa son centrados en carbono y estos 2 mecanismos son los más viables de ocurrir en este tipo de radicales.

El mecanismo HAT describe la transferencia de un hidrógeno perteneciente a una especie antioxidante, formando un estado de transición como se observa en la figura 12, por ello la importancia de que los antioxidantes sean derivados del fenol para así formar una especie menos reactiva y reparar el daño sobre la Guanosina.

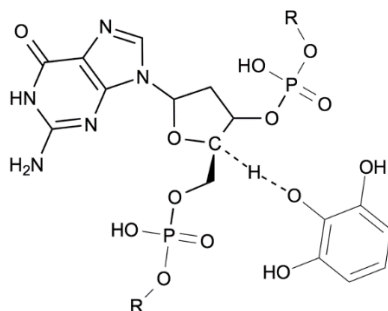
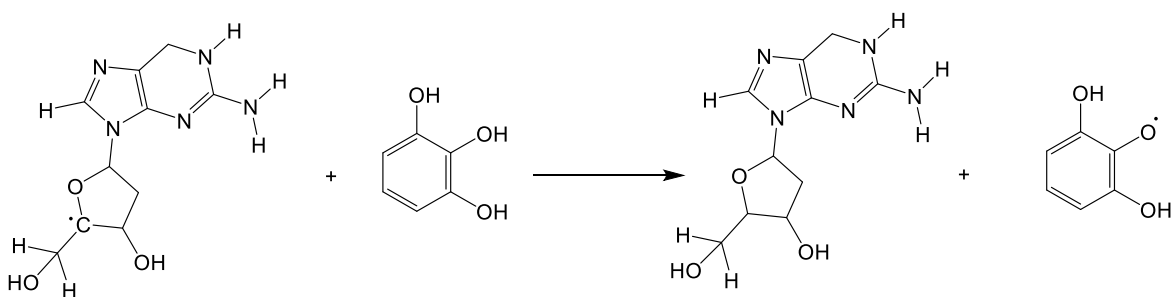


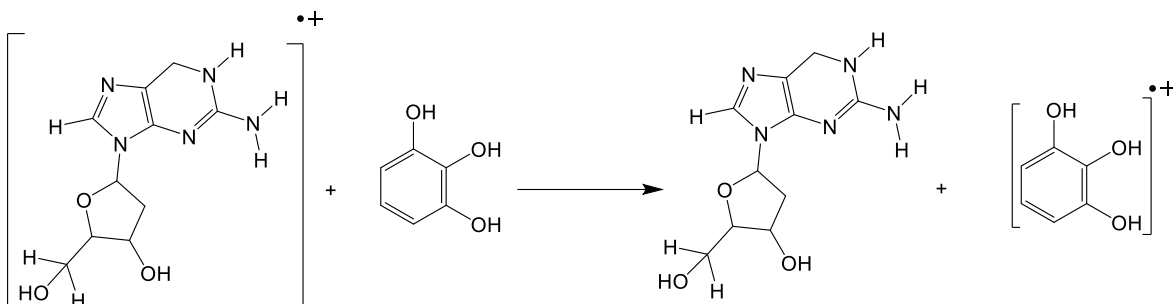
Figura 12. Estado de transición de reparación del radical C4' en la Guanosina por donación de un átomo de hidrógeno del pirogalol.

Ecuación 1.12. Reacción de transferencia de hidrógeno.



Mientras que el mecanismo SET impide la pérdida del protón en $G^{\bullet+}$, donando un electrón del antioxidante para estabilizar tanto la carga como el radical apareando el electrón libre y evitando que el daño continúe.

Ecuación 1.13. Reacción de transferencia de un electrón.



Marco teórico

5 Química Computacional.

La química computacional nació como disciplina en los años 70 enfocada al diseño y estudio de moléculas, utilizando computadoras y programas para calcular propiedades de interés químico; es por ello que la química computacional tiene un carácter predictivo, el cual es útil para acotar los procedimientos experimentales en nuevos campos. Está compuesta por 3 ramas fundamentales las cuales son la teoría, el modelo y cómputo.

La teoría de la química computacional comprende todo aspecto que ha sido desarrollado para explicar las observaciones experimentales, puede ser desde la propuesta de estructuras hasta la formulación de ecuaciones que describan los resultados obtenidos en el laboratorio.

El modelo químico, concepto introducido por John Pople, indica que consiste de la combinación de un método teórico y un conjunto base, es decir que el modelo debe estar construido sobre método matemático implementado y automatizado, con resultados aproximados y el sistema de estudio debe estar construido de manera que represente al sistema real.

Foresman menciona que: “un modelo debe ser aplicable en forma uniforme a cualquier sistema molecular, independiente de su tipo y tamaño, siendo la capacidad de computo su única limitante”.

El cómputo consiste en el uso de procesadores capaces de realizar operaciones matemáticas desde simples hasta complejas así como herramientas conocidas como interfaz gráfica para representar los sistemas, las cuales pueden ser programables y dependen del número de bytes que pueden ser procesados a la vez.

Por lo que realizar una definición de la química computacional sería la siguiente: El uso de métodos matemáticos para predecir propiedades de las moléculas con la finalidad de resolver problemas de interés químico utilizando computadoras.

6 Química Cuántica.

La química cuántica es una aplicación de la mecánica cuántica a las reacciones y especies químicas, como lo son átomos y moléculas. Se basa en la resolución matemática de funciones que describen las propiedades de las partículas subatómicas de las que están compuestos los átomos, estas propiedades se derivan al aplicar un operador sobre la función de onda $\Psi(q,t)$ ²⁵.

De acuerdo a un postulado de la química cuántica, la evolución del estado $\Psi(q,t)$ en el tiempo está dada por la ecuación $-\frac{\hbar}{i} \frac{\partial \Psi(x,t)}{\partial t} = H\Psi(x,t)$, donde H es el operador Hamiltoniano, un operador asociado a la energía del sistema y $\hbar = \frac{h}{2\pi}$.

Es posible mediante la separación de variables para estados estacionarios obtener una función independiente del tiempo, a la cual al aplicarle el operador H se obtiene ecuación de Schrödinger.

$$H\Psi = E\Psi \text{ Ec. 2.1}$$

Este y otros postulados son utilizados para resolver las funciones que describen nuestros sistemas moleculares, los cuales consisten de interacciones entre varias partículas como electrones y núcleos. Si se asume que estas partículas tienen una masa y una carga puntual se puede escribir el siguiente Hamiltoniano para un sistema molecular:

Ec. 2.2

$$H = -\sum_i \frac{\hbar^2}{2m_e} \nabla_i^2 - \sum_k \frac{\hbar^2}{2m_k} \nabla_k^2 - \sum_i \sum_k \frac{e^2 Z_k}{r_{ik}} + \sum_{i<j} \frac{e^2}{r_{ij}} + \sum_{k<l} \frac{e^2 Z_k Z_l}{r_{kl}}$$

Los índices k, l se refieren a los núcleos así como i, j a los electrones; r y m , se refieren a la distancia y la masa de las partículas respectivamente. El primer término es el operador de energía cinética de los electrones, el segundo operador es el de la energía cinética de los núcleos, el tercero se refiere a la energía potencial de la

interacción electrón núcleo; el cuarto a la energía potencial entre los electrones y el quinto, a la energía potencial entre los núcleos.

6.1 Aproximación de Born-Oppenheimer.

Debido a que la resolución de la ecuación de Schrödinger de una molécula es imposible de manera analítica, se utiliza la aproximación de Born-Oppenheimer la cual simplifica el sistema de estudio dividiendo al operador Hamiltoniano en su parte electrónica y su parte nuclear.

Esta aproximación considera a la masa de los electrones mucho más pequeña que la de los núcleos, por ello se puede considerar a estos últimos como cargas puntuales ya que los electrones se mueven mucho más rápido, lo que permite considerar constante el término de energía cinética nuclear y el hamiltoniano queda separado en 2 operadores, la repulsión entre los núcleos:

$$V_{NN} = \sum_{k < l} \frac{e^2 Z_k Z_l}{r_{kl}} \quad \text{Ec. 2.3}$$

y el hamiltoniano electrónico:

$$H_{el} = -\sum_i \frac{\hbar^2}{2m_e} \nabla_i^2 - \sum_i \sum_k \frac{e^2 Z_k}{r_{ik}} + \sum_{i < j} \frac{e^2}{r_{ij}} \quad \text{Ec. 2.4}$$

La energía puramente electrónica E_{el} de la molécula se obtiene al resolver:

$$H_{el} \Psi = E_{el} \Psi \quad \text{Ec. 2.5}$$

Como adicionar una constante a un operador únicamente se suma al valor propio y no tiene efecto sobre la función propia de este operador se puede calcular la energía electrónica U a partir de E_{el} y la cantidad constante V_{NN} :

$$U = E_{el} + V_{NN} \quad \text{Ec. 2.6}$$

Para tomar en cuenta el movimiento nuclear entonces se resuelve:

$$H_N \Psi = E \Psi \quad \text{Ec. 2.7}$$

donde H_N es el operador que considera este movimiento nuclear el cual incluye el término U de la forma:

$$H_N = -\frac{\hbar^2}{2} \sum_k \frac{1}{m_k} \nabla_k^2 + U \quad \text{Ec. 2.8}$$

6.2 Principio Variacional.

El principio variacional es un teorema desarrollado con la finalidad de encontrar soluciones aproximadas al problema de valores propios como puede ser en la ecuación de Schrödinger independiente del tiempo, que al ser una ecuación de valores propios que no tiene una solución exacta a excepción de los casos más simples, es necesario utilizar este teorema para encontrar la energía correspondiente.

Un par de suposiciones son realizadas por simplicidad, una de ellas es que el conjunto de valores propios, E_i , es discreto y dado que el operador Hamiltoniano, H , es un operador hermitiano, los valores propios son reales y las funciones propias correspondientes serán ortonormales.

La segunda suposición es que las funciones propias de H forman un conjunto completo y por lo tanto cualquier función (Φ) que cumpla las mismas condiciones de frontera que el conjunto $\{\Psi\}$ que puede ser escrita como la combinación lineal de funciones Ψ_i ²⁶ así:

$$\Phi = \sum_i c_i \Psi_i \quad \text{Ec. 2.9}$$

Se establece que existe una energía basal exacta E_0 cuyo límite superior corresponde al valor esperado del operador hamiltoniano, por lo que se puede llegar a las siguientes expresiones:

$$\int \Phi H \Phi dr - E_0 \int \Phi^2 dr = \sum_i c_i^2 (E_i - E_0) \quad \text{Ec. 2.10}$$

$$\frac{\int \Phi H \Phi dr}{\int \Phi^2 dr} \geq E_0 \quad \text{Ec. 2.11}$$

Ya que todos los coeficientes c_i^2 tienen que ser mayores o iguales a cero, se cumple que $(E_i - E_0) \geq 0$ llegando así al principio variacional para el estado basal, que nos indica que la energía de una función de onda aproximada es siempre más alta que la exacta. Por lo que una medida de la calidad de la función de onda, es la energía: mientras más baja sea la energía, mejor la función de onda.

$$E_\Phi \geq E_0 \quad \text{Ec. 2.12}$$

6.3 Funciones Base.

Las funciones base son aquellas funciones que representan un espacio vectorial, y se pueden utilizar para construir funciones de onda que describen los sistemas moleculares, a partir de una combinación lineal de funciones de onda atómicas.

Es importante definir el sistema de funciones base, debido a que están relacionadas directamente al costo y eficiencia de los cálculos ab initio, ya que el esfuerzo computacional aumenta en proporción al número de funciones utilizadas.

Estas funciones base deben de ser elegidas de tal manera que tengan una utilidad para describir los sistemas químicos, y que se empleen las mínimas necesarias para no afectar la precisión del cálculo.

Existen 2 tipos de funciones base para describir orbitales de los átomos. Los orbitales tipo Slater y los orbitales tipo Gaussianos.

Los orbitales tipo Slater tienen la forma:

Ec. 2.13

$$\varphi(r, \theta, \phi : \zeta, n, l, m) = \frac{(2\zeta)^{n+1/2}}{[(2n)!]^{1/2}} r^{n-1} e^{-\zeta r} Y_l^m(\theta, \phi)$$

Se compone de 2 partes, una parte radial y una esférica, la parte radial contiene una constante de normalización que corresponde a la fracción en el lado derecho de la ecuación, siendo n el número cuántico principal, ζ (zeta) una constante relacionada con la carga nuclear efectiva, r , la distancia del electrón al núcleo.

La parte angular, $Y_l^m(\theta, \phi)$ que se le conoce como armónicos esféricos de Laplace, depende de los números cuánticos de momento angular l y momento magnético m .

La principal característica de los orbitales del tipo Slater es que representan los orbitales de átomos hidrogenoides de manera muy precisa, pero a medida de que el número funciones base aumenta, la solución iterativa de las funciones base que representan una molécula tiene un costo computacional muy alto y no tienen una solución analítica.

Se propone un nuevo tipo de orbital del tipo Gaussiano que facilita la solución de este problema, esto se debe a que se modifica el decaimiento radial de e^{-r} a e^{-r^2} .

La forma de estas nuevas funciones es la de una función gaussiana, entonces los Orbitales tipo gaussianos en coordenadas cartesianas quedan de la forma:

Ec. 2.14

$$\phi(x, y, z; \alpha, i, j, k) = \left(\frac{2\alpha}{\pi} \right)^{3/4} \left[\frac{(8\alpha)^{i+j+k} i! j! k!}{(2i)!(2j)!(2k)!} \right]^{1/2} x^i y^j z^k e^{-\alpha(x^2 + y^2 + z^2)}$$

En esta ecuación α es un exponente que controla el decaimiento radial del orbital respecto al núcleo y los índices i, j, k , son números enteros no negativos que definen el tipo de orbital que se trata.

Las funciones del tipo gaussiano fallan en representar los orbitales cercanos al núcleo, al igual que muy alejados de este, a pesar de esta deficiencia son utilizadas debido a que es posible calcular las integrales electrónicas de manera analítica. Esto se debe en parte a que el producto de 2 funciones gaussianas en diferentes centros, generan una tercer función gaussiana en un solo punto, por lo que facilita la resolución de las integrales bielectrónicas.

Para representar de manera eficiente los orbitales atómicos, se realiza una combinación lineal de estas últimas funciones para representar un orbital tipo Slater de los cuales aparecen un nuevo tipo de funciones de base mínima, llamadas STO-NG, en donde N es el número de funciones gaussianas primitivas contraídas (es decir una combinación lineal) para representar los orbitales cercanos a los núcleos.

Por ejemplo una función base STO-3G es representada así:

$$\phi_{1s}(STO - 3G) = c_1 \phi_{1s}(\alpha_1) + c_2 \phi_{1s}(\alpha_2) + c_3 \phi_{1s}(\alpha_3) \quad \text{Ec. 2.15}$$

Tanto c_i como α_i son coeficientes que se tienen que encontrar para ajustar la función.

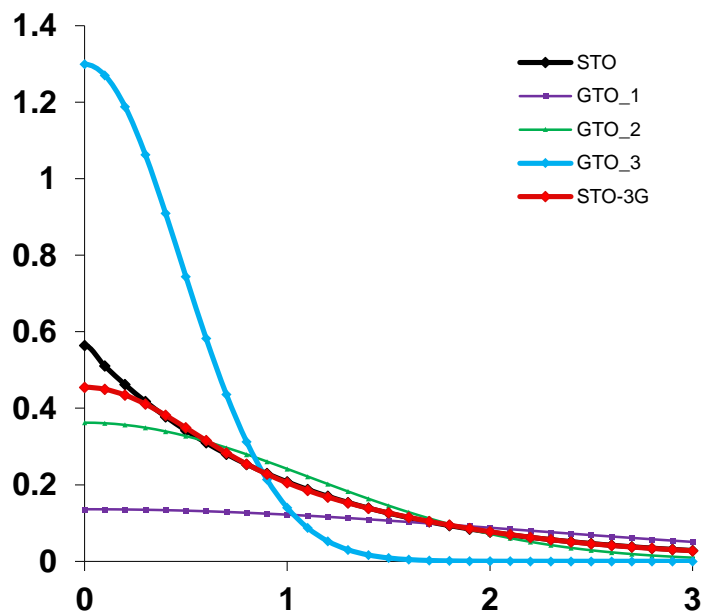


Figura 13. Representación radial para el orbital 1s con un electrón, para los distintos tipos de funciones base²⁸

Mientras más gaussianas primitivas sean utilizadas, mejor asemejan a una función tipo Slater, como se puede observar en la figura 13, sin embargo también se vuelve más costosas de evaluar computacionalmente. Debido a esto, es importante seleccionar la base mínima que representen los orbitales de que contienen los electrones de los átomos neutros de la molécula.

Para lograr esta representación, se puede mejorar la base aumentando el número de funciones, por lo que se incluyen funciones doble- ζ , es decir se duplica el número de funciones utilizadas para construir los orbitales. Así para el átomo de hidrógeno se tienen 2 funciones s denotadas como s y s', para los siguientes 3 elementos cuatro funciones s y 2 funciones p, para el resto de la segunda familia y 4 funciones s (1s, 1s', 2s, 2s') y 6 funciones p (px, px', py, py', pz, pz').²⁵

Ya que el enlace entre átomos se debe a la interacción entre los electrones de valencia, tiene más importancia desde un punto de vista químico tener orbitales flexibles que puedan representar esta interacción, por lo que se desarrolla una base dividida en la que el núcleo se describe por la contracción de las gaussianas

primitivas y los orbitales de valencia por las funciones doble- ζ , triple- ζ , cuádruple- ζ , etc.

Se pueden incluir funciones de polarización para describir la densidad en el entorno de los átomos al representar orbitales que están en el mismo número cuántico principal de la capa de valencia, pero corresponden a un número cuántico angular superior. Al igual que funciones difusas, para describir la distribución electrónica en la molécula, como en el caso de los aniones, debido a que la flexibilidad de la base debe permitir a un electrón débilmente enlazado a localizarse lejos de los núcleos. Para lograr esto, las funciones gaussianas a usar, tienen el mismo número cuántico angular de la capa de valencia, pero un exponente α más pequeño.²⁷

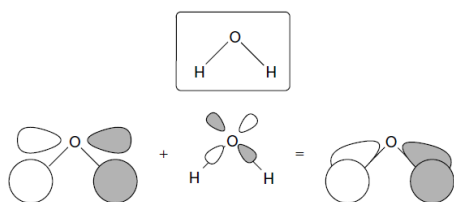


Figura 14. Orbital molecular formado por la interacción entre la combinación antisimétrica de los orbitales 1s de H y p_x del oxígeno. Las interacciones de enlace son mejoradas al mezclar una cantidad de carácter d_{xz} del oxígeno al orbital molecular.²⁷

Pople desarrolló bases divididas, que tienen la forma k-nlmG donde el término k denota el número de gaussianas primitivas contraídas para describir los orbitales internos, y los números nlm expresan la cantidad de funciones en las que se dividen los orbitales de valencia así como el número de gaussianas utilizadas. Por ejemplo la base en 6-31+G(d,p) contiene 6 funciones gaussianas primitivas contraídas para construir los orbitales del núcleo, 3 gaussianas contraídas, más una gaussiana para describir los orbitales de valencia, una función difusa de orbitales s y p para átomos con carga nuclear $Z > 2$, y funciones de polarización de orbitales d para los átomos del segundo periodo y p para los hidrógenos.

7 Teoría de los funcionales de la densidad.

La teoría de los funcionales de la densidad aparece debido a la necesidad de evaluar las propiedades mecanocuánticas a partir de alguna propiedad física “observable” de la función de onda. Hohenberg y Khon propusieron que la densidad electrónica podía contener la información de los N electrones que se encuentren en la molécula y que la energía puede ser encontrada utilizando esta propiedad.

Así, para conocer el número de electrones, se puede integrar la densidad sobre todo el espacio:

$$N = \int \rho(r)dr \text{ Ec. 3.1}$$

Por lo que a partir de esta densidad ρ , los términos del Hamiltoniano electrónico que dependen de la posición relativa de los electrones pueden ser sustituidos por esta propiedad observable que al tratarse de funciones cuyo argumento son funciones también, se les denomina funcionales.

7.1 Teoremas de Hohenberg y Khon²⁷

Con la finalidad de realizar una descripción completa de la estructura electrónica de las moléculas a partir de su densidad, Hohenberg y Khon establecieron 2 teoremas para darle validez.

El teorema de existencia demuestra que la densidad electrónica del estado estacionario $\rho(r)$ de una molécula determina el número de electrones, por lo tanto el potencial externo, y por ello determina la función de onda y el hamiltoniano. Es por eso que no pueden existir 2 estados estacionarios diferentes con la misma densidad electrónica. Y se puede afirmar que esta probabilidad de densidad electrónica contiene toda la información del sistema.

Entonces, la energía electrónica del estado basal es un funcional de la densidad electrónica y puede expresarse como:

Ec. 3.2

$$E[\rho(r)] = T_{ni}[\rho(r)] + V_{ne}[\rho(r)] + V_{ee}[\rho(r)] + \underbrace{\Delta T[\rho(r)] + \Delta V_{ee}[\rho(r)]}_{E_{XC}[\rho(r)]}$$

de la cual $T_{ni}[\rho(r)]$ es la energía cinética para un sistema de electrones no interactuantes, $V_{ne}[\rho(r)]$ es el potencial externo, $V_{ee}[\rho(r)]$ es la energía electrostática de repulsión entre electrones. Los 2 últimos términos son la corrección a la energía cinética que se debe a la interacción entre los electrones y las correcciones no-clásicas de la energía de repulsión electrón-electrón, estos términos corresponden a la energía de intercambio y correlación $E_{xc}[\rho(r)]$.

Otro teorema propone que al escoger aquellas densidades que produzcan una menor energía, es posible encontrar variacionalmente una energía que se aproxime a la del estado basal del mismo modo que ocurre con el método variacional en la metodología de Hartree-Fock.

7.2 Metodología de campo auto-consistente de Kohn-Sham.²⁸

La metodología de campo auto-consistente Kohn-Sham es análoga a aquella de Hartree Fock, en la que la dificultad para calcular la energía de la molécula se encuentra en el término del Hamiltoniano que determina la energía de interacción electrón-electrón, para resolver este problema propusieron un sistema de electrones no interactuantes con un Hamiltoniano que reemplaza el operador de Fock por el operador mono electrónico de Kohn-Sham.

$$h_i^{KS} = -\frac{1}{2} \nabla_i^2 - \sum_k^M \frac{Z_k}{|r_i - r_k|} + \int \frac{\rho(r')}{|r_i - r'|} dr' + V_{XC} \quad \text{Ec. 3.3}$$

Este sistema de electrones no interactuantes se utiliza como un sistema de referencia ficticio, el cual experimenta un potencial externo para que la densidad electrónica sea la misma que la densidad exacta de la molécula estudiada.

Los orbitales θ_i^{ks} de este sistema de referencia corresponden a la función de onda escrita como un determinante de Slater, en el cual la parte espacial de los espín-orbitales depende de un solo electrón y son función propia del operador h_i^{ks} .

Para sistemas moleculares con orbitales semillenos, es decir de capa abierta, la densidad electrónica de los electrones α y β se calcula por separado, por lo tanto la energía de intercambio y correlación, así como la energía cinética se consideran de manera independiente. La ecuación 3.2 puede ser reescrita en términos de orbitales de un electrón:

Ec. 3.4

$$E[\rho(r)] = \sum_i^N \left(\left\langle \phi_i \left| -\frac{1}{2} \nabla_i^2 \right| \phi_i \right\rangle - \left\langle \phi_i \left| \sum_k^M \frac{Z_k}{r_i - r_k} \right| \phi_i \right\rangle \right) + \sum_i^N \left\langle \phi_i \left| \frac{1}{2} \int \frac{\rho(r')}{|r_i - r'|} dr' \right| \phi_i \right\rangle + Exc[\rho(r)]$$

Donde N y M corresponden al número de electrones y núcleos, respectivamente, y la densidad de la función de onda de Slater es:

$$\rho = \sum_{i=1}^N \langle \phi_i | \phi_i \rangle \quad \text{Ec. 3.5}$$

El cuarto término que aparece en la ecuación 3.3, corresponde al operador de potencial de intercambio y correlación, conocido como la derivada del funcional $Exc[\rho(r)]$:

$$V_{xc} = \frac{\partial Exc[\rho(r)]}{\partial \rho(r)} \quad \text{Ec 3.6}$$

La importancia del funcional $Exc[\rho(r)]$ radica en que incluye la energía de correlación cinética, la energía de intercambio que aparece debido a la interacción entre electrones con espines paralelos y la energía de correlación coulombica. A pesar de que corresponde a una fracción de la energía total de la molécula, es el único término desconocido en las ecuaciones de Kohn-Sham, por lo que encontrar

el valor de energía de intercambio y correlación es necesario para conocer la energía exacta de la molécula.

7.3 Funcionales de Intercambio y correlación.

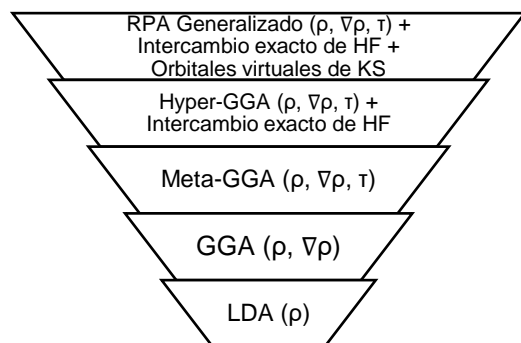
La energía E_{xc} es siempre tratada como la suma individual de las contribuciones de correlación e intercambio.

$$E_{xc} = E_x + E_c \quad \text{Ec. 3.7}$$

Estos valores de energía dependen directamente de la densidad electrónica $\rho(r)$, sin embargo el valor de la energía de intercambio y correlación puede ser tratada a partir de diferentes aproximaciones de esta variable. La más simple de ellas es la aproximación local de la densidad (LDA), la cual indica que el valor de E_{xc} para un punto r puede ser calculada a partir de la densidad ρ en esa posición. Otra aproximación es la del gradiente general (GGA), que tiene carácter semi-local, ya que incluye correcciones por gradiente de la densidad $\nabla\rho$ en los puntos locales r esto debido a que la densidad entre los átomos, no es homogénea.

A partir de estas aproximaciones, los funcionales E_{xc} van siendo mejorados al incluir variables como la energía cinética del orbital (τ), el intercambio exacto de Hartree-Fock (E_x^{HF}), y orbitales virtuales de Kohn-Sham.²⁹

La clasificación de estas aproximaciones fue propuesta por Perdew y la denominó, la escalera de Jacob:³⁰



7.4 Funcional M05-2X

El funcional M05-2X es un funcional no local desarrollado por Zhao y Truhlar, de la familia de funcionales parametrizados de Minnesota, que tienen la característica de ser híbridos, hyper-GGA, es decir que el potencial de correlación e intercambio, considera de manera parcial el intercambio exacto de Hartree Fock, así como la energía cinética de la densidad (τ), el gradiente de la densidad ($\nabla\rho$) y la densidad local (ρ).

Las partes locales del funcional M05-2X dependen de 3 variables: densidad de Spin ρ_σ , gradiente de densidad de spin reducida x_σ y densidad de la energía cinética de spin τ_σ .

$$x_\sigma = \frac{|\nabla\rho_\sigma|}{\rho_\sigma^{4/3}} \quad \sigma = \alpha, \beta \quad \text{Ec. 3.8}$$

$$\tau_\sigma = \frac{1}{2} \sum_i^{occup} |\nabla\Psi_{i\sigma}|^2 \quad \text{Ec. 3.9}$$

El funcional de correlación meta-GGA para M05-2X trata a los espines opuestos y los paralelos de manera diferente. Por lo que la correlación total para el funcional de correlación M05 es:

$$E_C = E_C^{\alpha\beta} + E_C^{\alpha\alpha} + E_C^{\beta\beta} \quad \text{Ec. 3.10}$$

La energía híbrida de correlación e intercambio puede ser escrita como:

$$E_{XC}^{hyb} = \frac{X}{100} E_X^{HF} + \left(1 - \frac{X}{100}\right) E_X^{DFT} + E_C^{DFT} \quad \text{Ec. 3.11}$$

E^{HF} es la energía no local de intercambio y X es el porcentaje de intercambio de Hartree Fock en el funcional híbrido. E^{DFT} es la energía de intercambio local y la energía de correlación local de DFT.

Este funcional está altamente parametrizado con resultados empíricos, especialmente para tomar en cuenta las interacciones no covalentes que son importantes en biomoléculas como ADN, ARN y proteínas.³¹

7.5 Métodos de solvente: SMD⁴⁴

Debido a que una gran parte de las reacciones químicas no ocurren en fase gas, es importante considerar un modelo de solvente que tome en cuenta los cambios en la energía libre de las reacciones y de solvatación en los cálculos de la mecánica cuántica, en la que el soluto puede interactuar con este solvente de manera explícita con moléculas de agua explícitas alrededor de la molécula o implícita, que utiliza una aproximación continua donde la estructura electrónica de una molécula en un líquido, es reducido al tamaño del soluto al someterlo en un medio uniforme y polarizable, con una constante dieléctrica definida.

La energía libre de solvatación ΔG°_s , para el modelo implícito es una contribución de 3 contribuciones distintas:

$$\Delta G^{\circ}_S = \Delta G_{elec} + \Delta G_{cav} + \Delta G_{disp} \text{ Ec. 3.8}$$

Donde ΔG_{disp} corresponde a la polarización del medio continuo debida a la distribución de carga de la molécula, ΔG_{cav} es la energía libre correspondiente a la formación de cavidad en el solvente y ΔG_{elec} a las interacciones multipolares entre el solvente y el soluto.

El modelo SMD desarrollado por Truhlar y Cramer⁴⁷, está basado en la densidad de carga mecanocuántica de una molécula de soluto interactuando con una descripción continua del solvente. Este modelo separa la energía libre de solvatación observable en 2 partes principales: La contribución electrostática ΔG_{ENP} en el seno de la solución, que surge debido a un campo autoconsistente de reacción y la contribución ΔG_{CDS} de la estructura cavidad-dispersión-solvente que es la contribución de las interacciones cercanas entre soluto y moléculas de solvente en

la primera esfera de solvatación. La contribución ΔG°_{conc} corresponde al cambio de concentración estado estándar de la fase gas al estado estándar en fase líquida.

$$\Delta G^{\circ}_S = \Delta G_{ENP} + \Delta G_{CDS} + \Delta G^{\circ}_{conc} \quad \text{Ec. 3.9}$$

8 Cinética Química.

La cinética química, también denominada cinética de las reacciones, estudia las velocidades y mecanismos de las reacciones químicas. Un sistema reactivo no está en equilibrio, por lo que la cinética de las reacciones no se considera parte de la termodinámica.³²

La representación cinética de una reacción se debe a la rapidez de desaparición de reactivos o la de aparición de productos, es decir un cambio en la concentración de estas especies respecto al tiempo.

Ej. Sea la reacción



Se puede expresar la rapidez:

$$r = -\frac{1}{a} \frac{d[A]}{dt} = -\frac{1}{b} \frac{d[B]}{dt} = \frac{1}{c} \frac{d[C]}{dt} = \frac{1}{e} \frac{d[E]}{dt} \quad \text{Ec. 4.2}$$

Entonces la velocidad de la reacción puede ser determinada a partir de medir el cambio de la concentración respecto al tiempo, algo que se puede realizar de manera experimental, por lo que se concluye que la rapidez de la reacción puede ser determinada a partir de las concentraciones de las N especies involucradas multiplicando una constante de proporcionalidad.

$$r = k[A]^\alpha [B]^\beta \dots [N]^\nu \quad \text{Ec. 4.3}$$

Los exponentes de cada concentración determinan la participación de las especies en reacción denominado "orden parcial" de reacción que dan lugar al orden total de la reacción " n " que se calcula:

$$n \equiv \alpha + \beta + \dots + \nu \quad \text{Ec. 4.4}$$

Si n es igual a 1, se le llama una reacción de primer orden, si es igual a 2 es de segundo orden y así sucesivamente, este orden de reacción es determinado experimentalmente.

También aparece una constante de gran importancia en los cálculos cinéticos, llamada constante de velocidad “k” que es independiente de las concentraciones involucradas, por lo que puede ser utilizada como criterio de comparación entre reacciones.

8.1 Teoría del Estado de Transición (TST).

La teoría del Estado de Transición fue desarrollada por Pelzer, Wigner, Evans, Polanyi³³ y Eyring³⁴, con la finalidad de construir una teoría que permita conocer las constantes de velocidad para reacciones de manera teórica.

La TST los reactivos forman una nueva especie al aproximarse a un punto de silla en la superficie de energía potencial, la cual corresponde al estado de transición entre productos y reactivos, llamado complejo activado, posteriormente al cruzar este punto de silla se da lugar a los productos correspondientes y por lo tanto no es un proceso reversible.

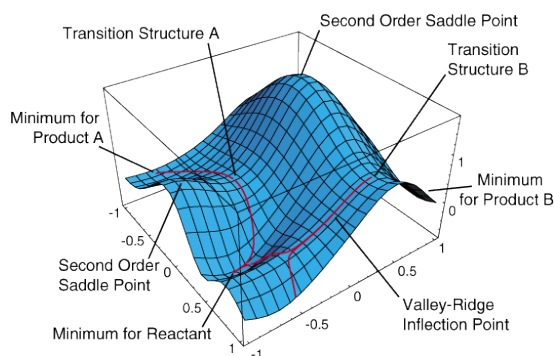


Figura 15. Superficie de energía potencial en 3 dimensiones.²⁹

La TST supone que conocer la superficie de energía potencial es suficiente para conocer la estructura de las especies, las cuales se tratan como un sistema mecánico-cuántico donde la energía potencial de los núcleos depende de su posición relativa, por ello, las coordenadas nucleares se van variando a la par que

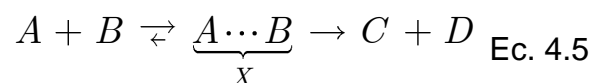
se resuelve la ecuación de Schrödinger usando la aproximación de Born-Oppenheimer para cada posición nuclear fija.³²

Con las segundas derivadas de la energía respecto a la posición de los núcleos se calculan las constantes de fuerza para la configuración establecida, y es posible conocer si se encuentra en un máximo, un mínimo o un punto de silla de la energía potencial "V".

El cálculo de frecuencias es de principal interés en la búsqueda del estado de transición ya que al encontrar sólo una frecuencia imaginaria se encuentra el punto de silla en la superficie de energía potencial (es decir un punto máximo en la dirección de la coordenada de reacción) al modo normal de vibración se le denomina vector de transición.

También se supone que las moléculas reactivas mantienen una distribución de Boltzmann a lo largo de la coordenada de reacción, la figura 16 describe este movimiento de los reactivos a lo largo de una coordenada.

De acuerdo a la distribución de Boltzmann para una reacción que depende de dos estados que son Reactivos y Estado de Transición, en el cual el complejo activado al que llamaremos X, está formado por A-B:



El cuasi-equilibrio químico de los reactivos con el estado de transición corresponde a:

$$k_r = \frac{[X]}{[A][B]} \quad \text{Ec. 4.6}$$

La constante K_r se puede obtener en función de sus propiedades moleculares utilizando dicha distribución:

$$K_r \equiv \frac{N_x^\pm}{N_A N_B} = \frac{q_\pm}{q_A q_B} e^{-\frac{\Delta E_d}{k_B T}} \quad \text{Ec. 4.7}$$

donde N es el número de moléculas para A , B y X mientras que “ q ” son las funciones de partición canónicas (NVT) de cada una de las especies y ΔE es la diferencia de energías electrónicas en los estados energéticos de estado de transición y reactivos.

Realizando un tratamiento estadístico es posible pasar de moléculas a concentración de especies mediante mecánica estadística y se puede reescribir la constante de velocidad en función de las propiedades termodinámicas de las especies.

$$k_r = \sigma \kappa \frac{k_B T}{h} e^{-\frac{\Delta G^\ddagger}{RT}} \quad \text{Ec. 4.8}$$

Se añaden las correcciones por degeneración de paso de reacción σ que corresponde al número total de simetría de rotación de los reactivos, y por efecto túnel κ , debido al comportamiento ondulatorio de las partículas extremadamente pequeñas que pueden atravesar la barrera de energía potencial.³⁵

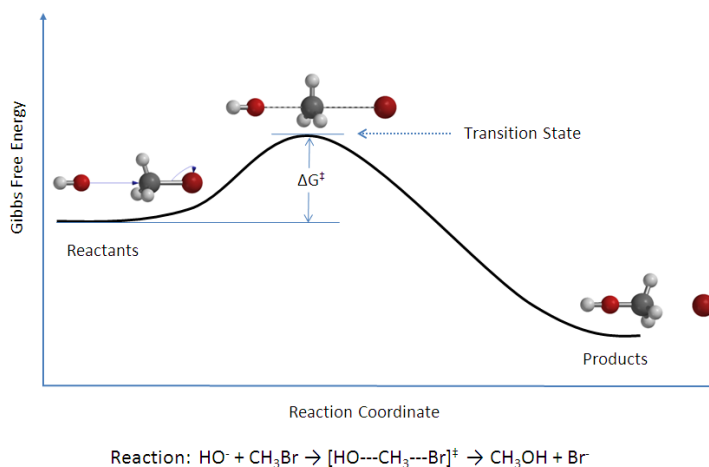


Figura 16. Coordenada de reacción en 2 dimensiones, donde se observa la barrera de energía para formar el complejo activado.³⁴

8.2 Teoría de Transferencia electrónica.

Esta teoría fue desarrollada por Marcus³⁶, con la finalidad de encontrar las energías de activación para reacciones donde el estado de transición ocurre en una transición electrónica.

En una reacción de transferencia electrónica, al no existir una formación o rompimiento de enlaces, se necesita una aproximación diferente para evaluar el TS debido a que el electrón tiene una velocidad mayor a la de los núcleos, por lo que estos últimos quedan “fijos” durante el paso de reactivos a productos.

Marcus propone que es posible representar las coordenadas nucleares en una sola dirección sobre la superficie de energía potencial, lo que lleva a la formación de parábolas alrededor de los mínimos locales de productos y reactivos. Debido a esto existe un punto, como se muestra en la figura 17, donde las parábolas se cruzan el cual corresponde al estado degenerado de estas 2 moléculas formando un estado de transición de transferencia electrónica.

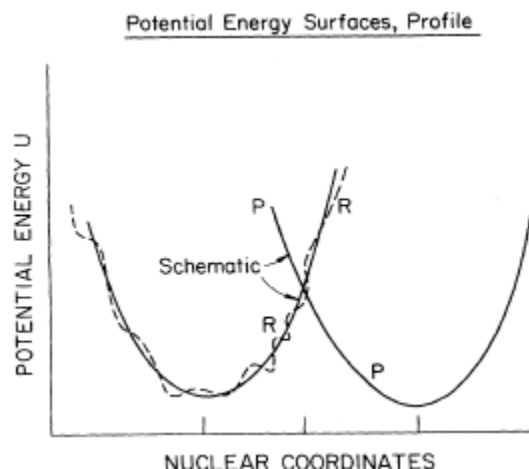


Figura 17. Esquema de intersección en la energía potencial de reactivos R y productos P.³⁴

Este principio derivó a una formulación matemática del cálculo del estado de transición, a partir de la energía de reacción y reorganización.

$$\Delta G^\ddagger = \frac{\lambda}{4} \left[1 + \frac{\Delta G^\circ}{\lambda} \right] \text{ Ec. 4.9}$$

En esta ecuación ΔG^\ddagger corresponde a la energía libre de activación, ΔG° la energía libre de reacción y λ a la energía reorganización nuclear:

$$\lambda = \Delta E - \Delta G^\circ \text{ Ec. 4.10}$$

De la cual ΔE es la energía de relajación vibracional que corresponde a la energía de los productos en geometría de los reactivos³⁷ representado en el esquema de la figura 18.

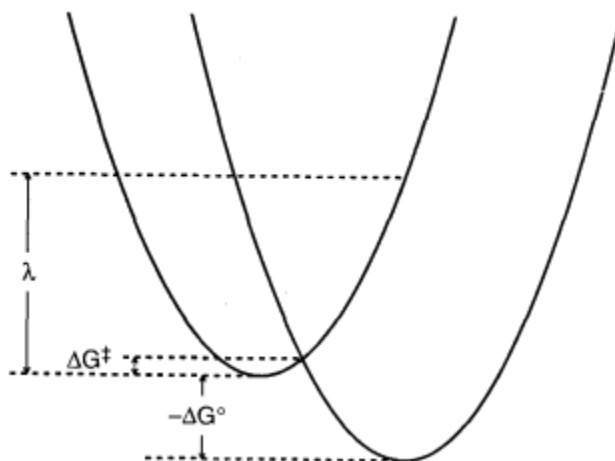


Figura 18. Representación gráfica del cálculo de la energía libre de activación que corresponde a la intersección de las 2 parábolas de energía potencial y donde λ corresponde a la energía de reorganización.³⁵

Objetivos.

9 Objetivos generales.

Utilizando la teoría de funcionales de la densidad, estudiar la susceptibilidad de la Guanosina de ser reparada por distintas moléculas antioxidantes debido a su actividad tipo uno, conocer la constante de velocidad a la que ocurren estas reacciones y los mecanismos por los que es subsanado el daño debido a las causas de daño primarias y secundarias.

9.1 Objetivos particulares.

- Conocer la viabilidad termodinámica de las reacciones para los mecanismos de reparación.
- Buscar la geometría del estado de transición de las reacciones estudiadas.
- Calcular las constantes de velocidad de la reparación por transferencia de átomo de hidrógeno para los distintos antioxidantes.
- Calcular las constantes de velocidad para las reacciones de transferencia de un electrón que evita el daño del catión radical Guanosina.
- Conocer las constantes de velocidad global para la reparación de la Guanosina tomando en cuenta el pH

Metodología.

10 QM-ORSA

Para evaluar la rapidez de la reacción de reparación, se sigue la metodología denominada QM-ORSA (Prueba global basada en la mecánica cuántica para evaluar la actividad antioxidante).

Es un protocolo mediante el cual se obtienen propiedades termodinámicas de las moléculas de estudio utilizando cálculos de mecánica cuántica, se consideran efectos de solvatación mediante el modelo smd, se realizan también correcciones de efecto túnel en la transferencia de átomos de hidrógeno debido al tamaño de estas partículas, se lleva a cabo el cálculo de constantes de velocidad utilizando la teoría del estado de transición tomando en cuenta la importancia del pH fisiológico debido al predominio de especies a pH=7.4.

La actividad antioxidante está validada por esta metodología ya que fueron comparados resultados experimentales y teóricos de 16 reacciones, en las que de manera general se calculó una sobreestimación de la barrera de reacción de tan sólo 0.64 kcal mol⁻¹.³⁸

Para conocer los mecanismos por los que ocurre la reparación, es necesario realizar el cálculo de la coordenada intrínseca de reacción (intrinsic reaction coordinate, IRC) que conecta reactivos con los productos.

11 Cálculos computacionales.

En el presente trabajo se realizó optimización de geometría y cálculos de frecuencia vibracional para cada uno de los sistemas estudiados que involucran las reacciones de antioxidantes, con el carbono 4' del nucleótido de Guanosina para reacciones que involucran una donación directa de un átomo de hidrógeno y del catión radical para reacciones de transferencia de un electrón, esto incluye reactivos (antioxidantes, y nucleótido dañado), productos (nucleótido reparado y antioxidante radicalario) para el mecanismo SET y se incluyó el cálculo de estado de transición para el mecanismo HAT.

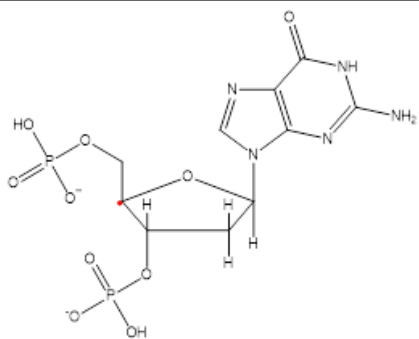
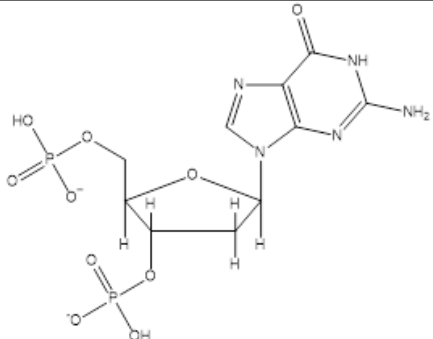
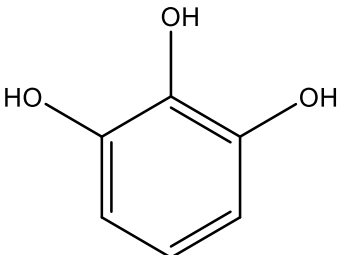
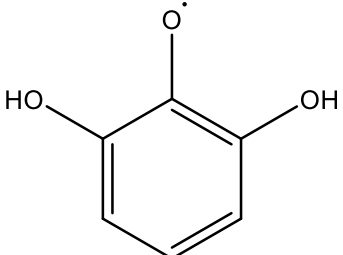
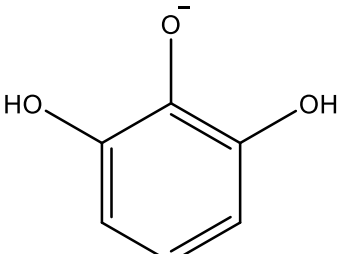
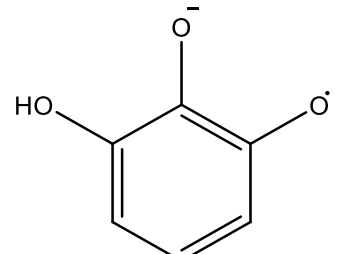
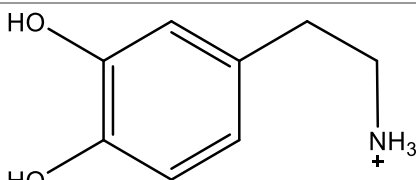
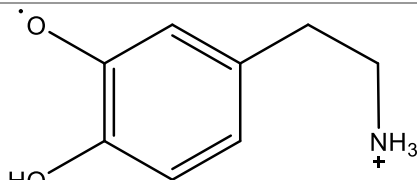
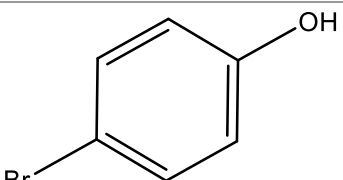
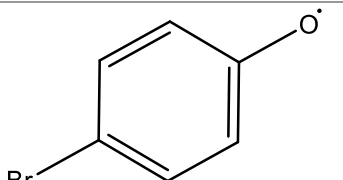
Los cálculos fueron realizados en el programa Gaussian 09, con la base 6-31+g(d,p) y a un nivel de teoría M05-2x. Este funcional fue desarrollado para estudios de termoquímica, cinética química e interacciones no covalentes, el cual está parametrizado únicamente para no metales³⁹ y ha demostrado excelentes resultados en reproducir características estructurales del ADN⁴⁰ así como distintas biomoléculas.⁴¹

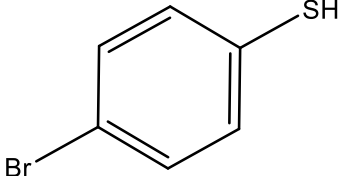
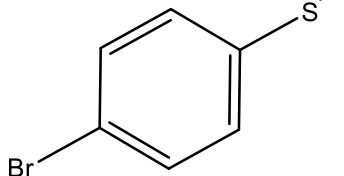
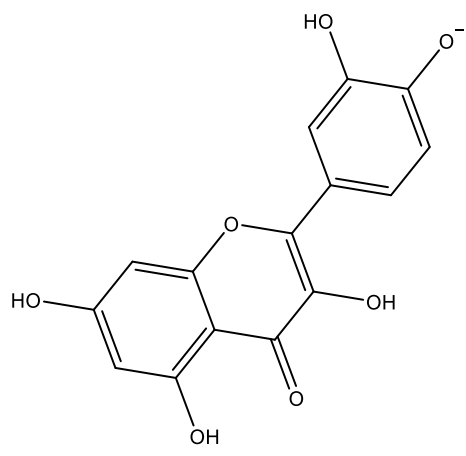
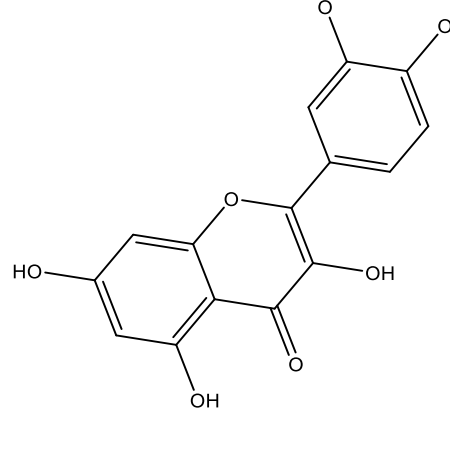
Además se tomaron en cuenta efectos de disolución en agua, utilizando el modelo de disolvente continuo scrf=smd (solvent model density).⁴²

Se realiza el cálculo de estructura electrónica de las especies determinantes de la reacción, es decir productos y reactivos, lo que conlleva a una optimización y cálculo de frecuencias con el funcional, la base y el método de solvente descritos, para los cálculos del estado de transición se realiza una optimización a un punto de silla en la superficie de energía potencial.

11.1 Moléculas de estudio HAT.

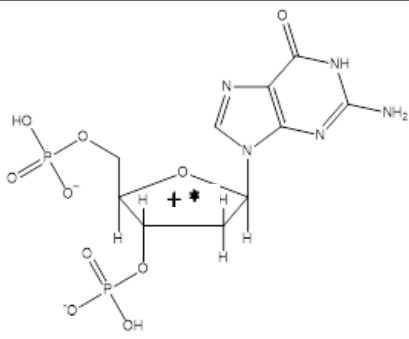
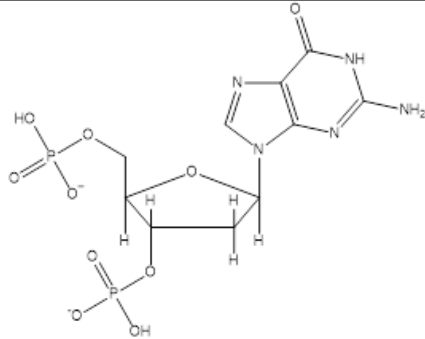
Tabla 3. Estructuras de los reactivos y productos de la reacción de reparación por transferencia de un átomo de hidrógeno (HAT)

Reactivos	Productos	Nombre
		Nucleótido Guanosina
		Pyrogalol
		Anión Pyrogalol
		Dopamina
		P-Bromofenol (4-Bromo fenol)

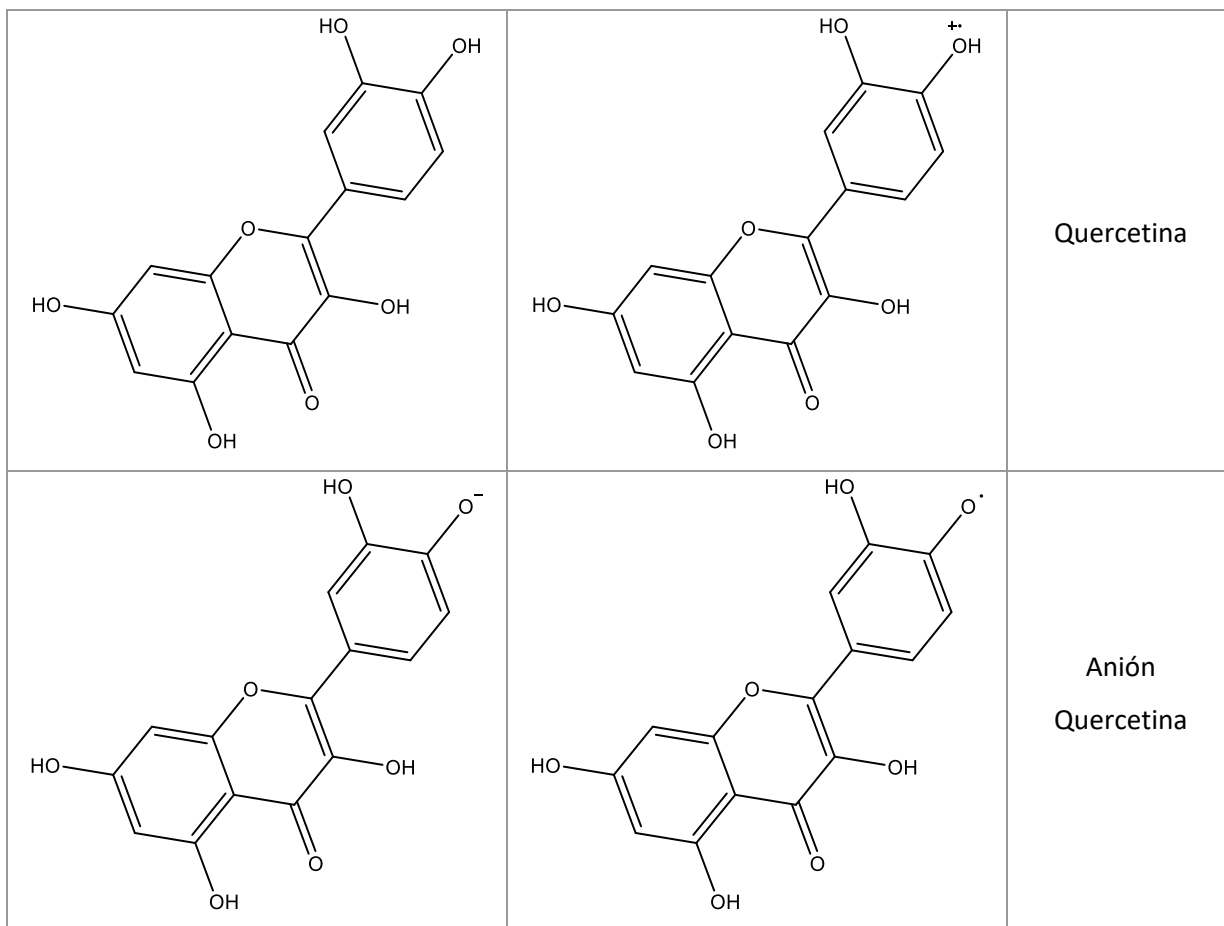
		<p>P-Bromotiofenol (4-Bromo bencenotiol)</p>
		<p>Anión Quercetina</p>

11.2 Moléculas de estudio SET

Tabla 4. Estructuras de los reactivos y productos de la reacción de reparación por transferencia de un electrón. (SET)

Reactivos	Productos	Nombre
		<p>Nucleótido Guanosina</p>

		Pyrogalol
		Anión Pyrogalol
		Dopamina
		P-Bromofenol (4-Bromo fenol)
		Anión P-Bromofenol (4-Bromo fenol)
		P-Bromotiofenol (4-Bromo bencenotiol)
		Anión P-Bromotiofenol (4-Bromo bencenotiol)



Como consideración importante se agregó un fosfato al nucleótido de Guanosina sobre el oxígeno en la posición 3' de la ribosa, para simular su presencia en la cadena y se agregaron hidrógenos a un oxígeno de cada uno de los fosfatos para tener en cuenta la valencia al estar unido a 2 nucleótidos más.

11.3 Cálculo de constantes de velocidad

La constante de velocidad es calculada utilizando la teoría del estado de transición utilizando la ecuación 4.8 para reacciones HAT y además se utiliza la teoría de transferencia electrónica para mecanismos SET, para conocer esta constante en estado estándar 1 M.

Se realizan correcciones al ΔG^\ddagger de activación restándole -4.44kcal/mol. Esto es debido a que la corrección del estado fase gas a estado en solución 1M corresponde a -1.89 kcal/mol, mientras que la corrección debida a efectos por caja de solvente es de -2.55 kcal/mol.⁴³

Esta corrección sólo se realiza en reacciones bimoleculares en las que sólo haya un producto o en el caso de un estado de transición el cual forma un complejo activado.

En el caso de que la constante de velocidad sea $\geq 10^9$, quiere decir que es una reacción controlada por difusión, entonces la velocidad está limitada por la velocidad a la que se encuentran los reactivos en determinado medio de solvatación.

Debido a esto es posible realizar una corrección con base en la teoría de Collins-Kimball que indica que es posible calcular la constante de velocidad aparente de una reacción controlada por difusión de acuerdo a la ecuación 5.1.

$$k_{app} = \frac{k_{TST}k_D}{k_{TST} + k_D} \text{ Ec. 5.1}$$

donde k_{TST} es la constante calculada mediante la teoría del estado de transición y k_D es la constante de Smoluchowski que es la constante de velocidad para una reacción bimolecular irreversible que está controlada por difusión.

Para considerar el efecto túnel que puedan presentar las reacciones se utiliza la metodología de *zero-curvature tunneling*⁴⁴.

Y debido a la estructura de los antioxidantes, hay que realizar correcciones por degeneración de paso de reacción sólo para la segunda desprotonación del pirogalol.

11.4 Consideración del pH fisiológico.

Para considerar el efecto del pH se calcularon las concentraciones molares relativas de cada una de las especies en solución acuosa, haciendo uso de las constantes globales de formación, β , que se obtienen a partir de sus pKas calculados teóricamente⁴⁵, de los distintos antioxidantes a condiciones estándar utilizando las ecuaciones:

$$pK_a = \frac{\Delta G^o}{2.303 R T} \text{ Ec. 5.2}$$

$$\Phi_{AL_i} = \left[1 + \sum_i^n \beta_i [L] \right]^{-1} \sum_i^n \beta_i [L]^i \text{ Ec. 5.3}$$

Y se corrige la constante de velocidad tomando en cuenta estas fracciones molares.

$$k_{SET} = mf(HA)k_{SET} + mf(A^-)k_{SET} \text{ Ec. 5.3}$$

Resultados.

12 Efecto del pH.

Las distintas especies fenólicas al actuar como antioxidantes del tipo I, dependen de la capacidad de donar un átomo de hidrógeno o un electrón para participar en mecanismos de reparación. Se ha observado que el mecanismo por el que ocurre esta reacción está influenciado por la disociación en solución acuosa de las especies de manera significativa ya que sólo aquellas especies capaces de donar un átomo de hidrógeno, pueden reparar por mecanismo HAT formando radicales sobre el átomo donante y por mecanismo SET formando un catión radical, mientras que las especies aniónicas, al no contar con un hidrógeno lo suficientemente ácido para ser donado o a una concentración apreciable, el mecanismo por el que puede reparar es únicamente por transferencia de un electrón.

Al ser las células del cuerpo humano un medio mayormente acuoso, con un pH fisiológico de alrededor de 7.4, es importante conocer la concentración relativa de las especies a estas condiciones, por lo que se obtuvieron las fracciones molares (fm) de las moléculas de estudio utilizando sus valores de pK_a en solución acuosa, realizando diagramas de concentración molar para cada una de ellas.

12.1 Fracción molar para las especies antioxidantes.

Se presentan algunos diagramas de concentración relativa en solución acuosa, ya que se pueden perder desde 1 hasta 5 protones dependiendo de la especie. Sin embargo el cálculo de la abundancia relativa es similar en todos los casos, únicamente se modifican las constantes de formación de las especies de interés de acuerdo con la ecuación 5.2.

Pirolgalol

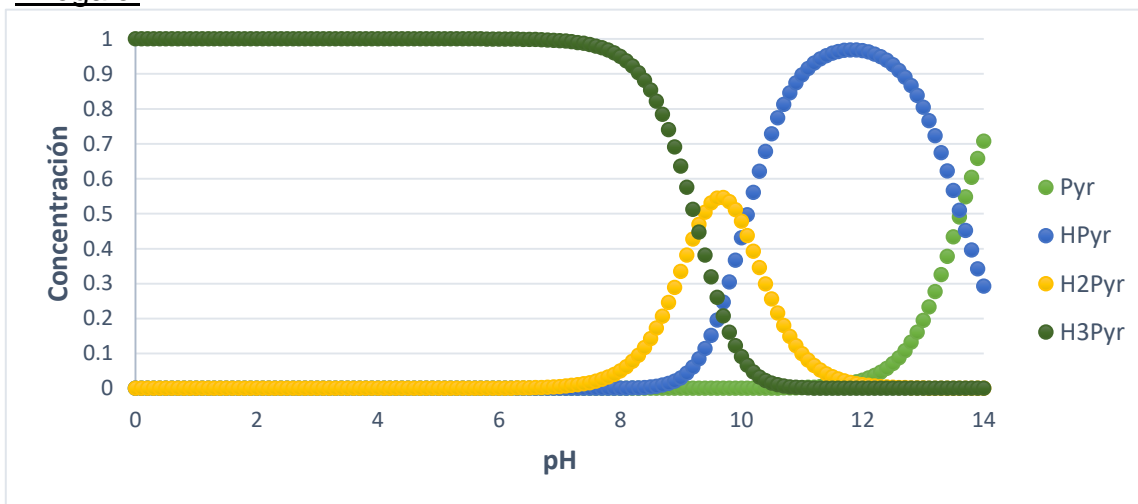


Figura 19. Diagrama de concentración molar relativa en función del pH para el pirolgalol.

4-Bromofenol

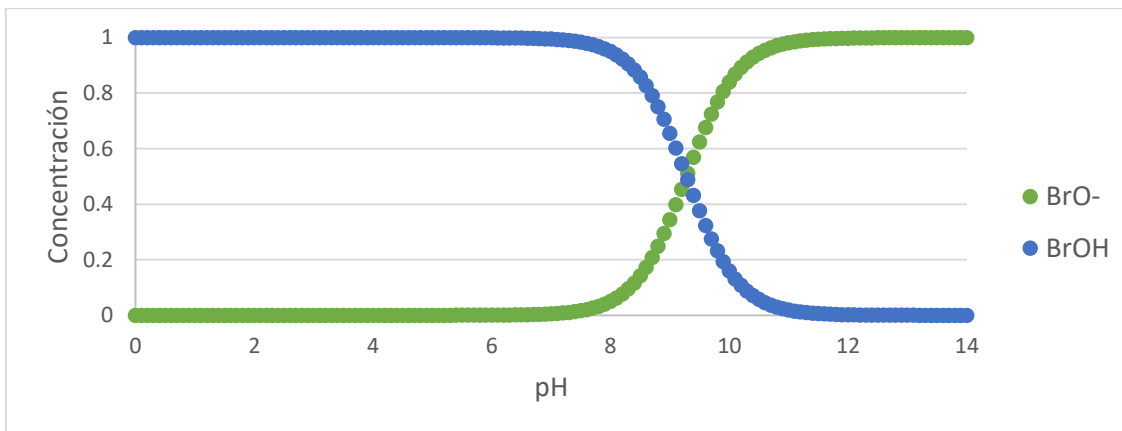


Figura 20. Diagrama de concentración molar relativa en función del pH para el bromofenol.

Quercetina⁴⁶

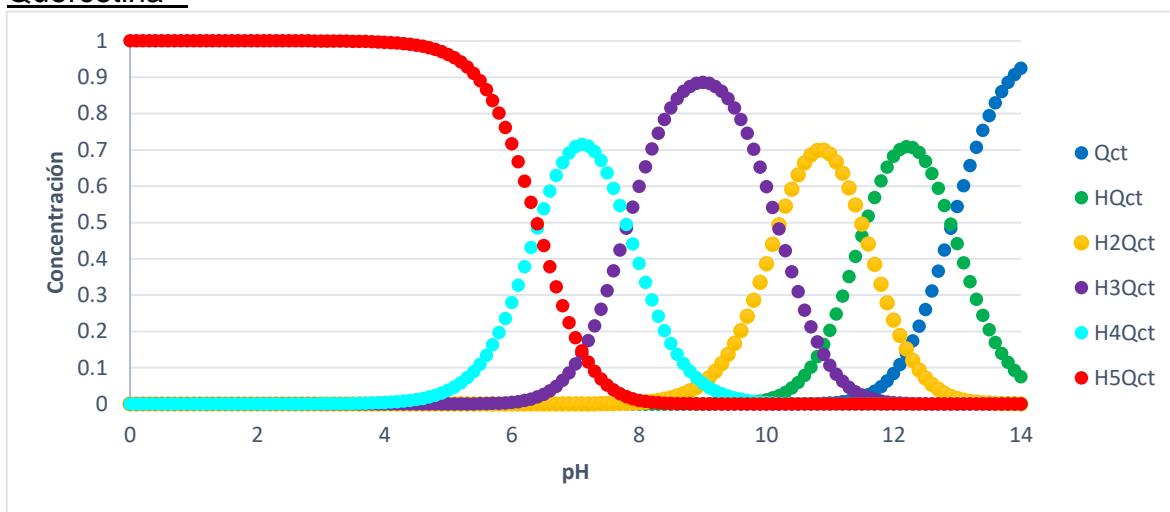


Figura 21. Diagrama de concentración molar relativa en función del pH para la Quercetina.

Tabla 5. Fracciones molares (α) a pH fisiológico.

<i>ph=7.4</i>	<i>α neutro</i>	<i>α anión</i>
Pirogalol	0.9869	0.0130
Bromofenol	0.9870	0.0130
Bromotiofenol	0.0136	0.9864
Dopamina	0.9533 (catión)	0.0467(neutro)
Quercetina	0.0686	0.6702

Se puede notar que la mayoría de las especies en disolución acuosa a pH fisiológico se encuentran en su forma protonada, excepto para la Quercetina y el bromotiofenol, ya que el enlace azufre-hidrógeno es más débil que el oxígeno-hidrógeno debido principalmente al tamaño del átomo, mientras que la Quercetina al tener una estructura de flavonoide, puede estabilizar la carga debido a la conjugación aromática de la estructura total.

En el caso de la Dopamina, al tener un grupo amino, este se encuentra protonado a pH ácidos, y se ha encontrado que el primer protón que dona es aquel que corresponde al grupo hidroxilo en posición meta de la cadena alifática.

13 Estructuras optimizadas.

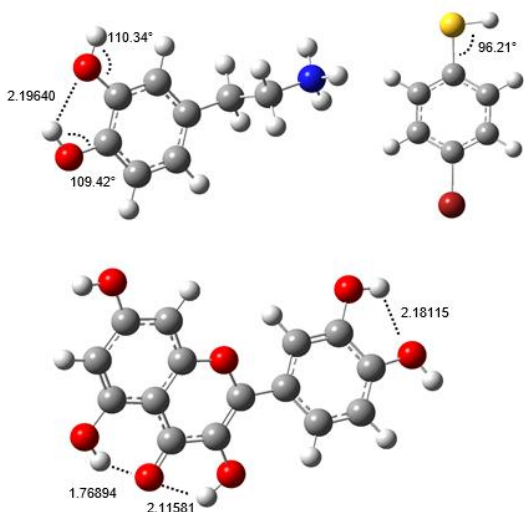


Figura 22. Estructuras optimizadas para los reactivos de la Dopamina, 4-Bromotifenol y Quercetina.

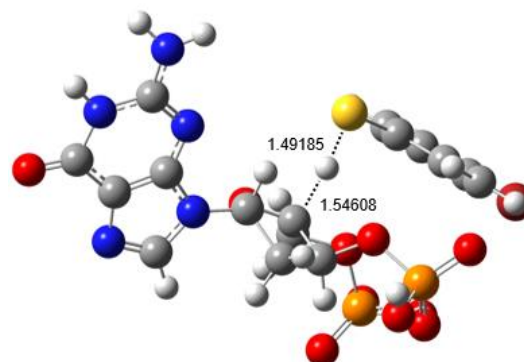


Figura 23. Estructura optimizada para el estado de transición de la reparación por 4-Bromotifenol del carbono 4'

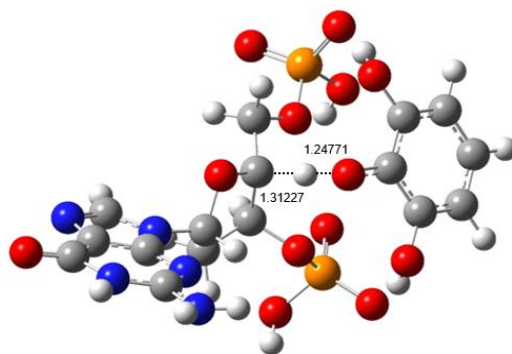


Figura 24. Estructura optimizada para el estado de transición de la reparación por Pirogalol del carbono 4'

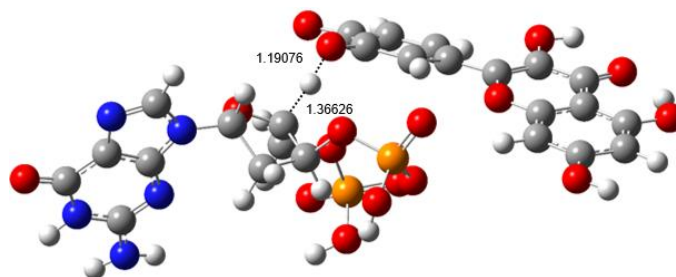


Figura 25. Estructura optimizada para el estado de transición de la reparación por anión Quercetina del carbono 4'

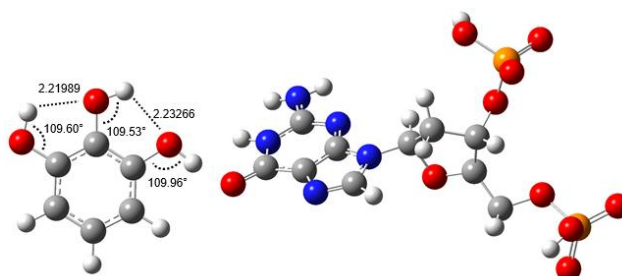


Figura 26. Estructuras optimizadas para los reactivos de la reacción de reparación por Pirogalol.

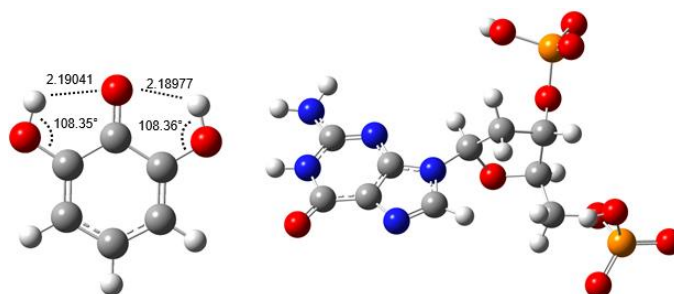


Figura 27. Estructuras optimizadas para los productos de la reacción de reparación por Pirogalol.

Es pertinente aclarar que para las moléculas que involucran especies radicales así como en los estados de transición tienen una multiplicidad de doblete, mientras que las especies en su estado basal su multiplicidad es de singulete.

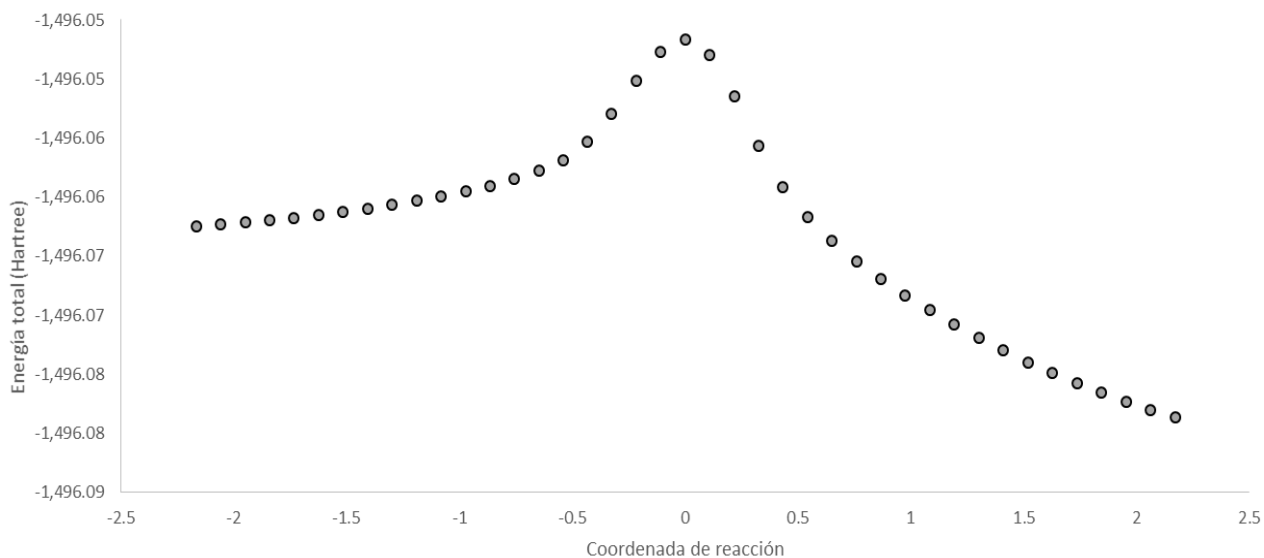


Figura 28. Gráfico de la coordenada de reacción intrínseca para la reacción de transferencia de hidrógeno del Pirogalol al carbono 4' de la Guanosina.

La figura 28 representa la geometría y energía correspondiente para cada paso del camino de reacción en dirección de reactivos a productos de la transferencia de un átomo de hidrógeno pasando por un estado de transición que corresponde al punto de máxima energía.

Tabla 6. Distancias de transferencia de hidrógeno en el TS

	Enlace (Å)		
	C-H	H-O	H-S
Pirogalol	1.31227	1.24771	-
anión Pirogalol	1.37845	1.17792	-
Dopamina	1.29268	1.25825	-
Bromofenol	1.27068	1.29656	-
Bromotiofenol	1.54608	-	1.49185
anión Quercetina	1.36626	1.19076	-

Como se observa en la tabla 6, la distancia de transferencia para los enlaces carbono-hidrógeno depende del heteroátomo donante, en el caso del oxígeno, esta distancia se encuentra alrededor de 1.3 Å, distancia que se ve aumentada por la presencia de una carga negativa en la molécula antioxidante que atrae el hidrógeno transferido a la especie con más densidad electrónica, mientras que la distancia oxígeno-hidrógeno se encuentra alrededor de 1.25 Å, y se ve disminuida de igual manera por la presencia de una carga negativa en la molécula antioxidante.

Se puede observar que el enlace de transferencia azufre-hidrógeno tiene una distancia mayor al enlace O-H, esto se debe a que el tamaño del átomo de azufre es mayor que el oxígeno y la electronegatividad entre los átomos S y H es más parecida. Esto también influye en la distancia C-H ya que el carbono y el hidrógeno tienen electronegatividades similares pero el carbono tiene un menor radio atómico.

14 Análisis termodinámico de las reacciones de reparación.

El estudio de la energía libre de Gibbs de una reacción es un criterio de espontaneidad en condiciones de temperatura y presión constantes para determinar si una reacción ocurre, ya que si esta energía es negativa puede llevarse a cabo la reacción.

Si las reacciones resultan ser exergónicas (con energía libre de Gibbs negativa), entonces es necesario realizar el cálculo de la constante de velocidad de reacción, debido a que el ΔG no define la rapidez. Si las reacciones son endergónicas, la reacción no es termodinámicamente viable es decir que no es espontánea y no es necesario calcular constante de velocidad en esos casos.

La energía libre de activación nos da un indicio de que tanta energía es necesaria una reacción pase de reactivos a productos, por lo que a más altas energías de activación la reacción es más lenta de acuerdo a la teoría del estado de transición.

14.1 Reparación por mecanismo HAT

En la tabla 7 se presentan las propiedades termodinámicas calculadas para las reacciones de reparación que son: la energía libre de reacción, la entalpía de reacción y la energía libre de activación.

Tabla 7. Resultados termodinámicos para la reparación de transferencia de un átomo de hidrógeno.

	ΔG (kcal/mol)	ΔH (kcal/mol)	ΔG^\ddagger (kcal/mol)
Pirogalol	-18.1080561	-19.0486936	11.4755361
anión Pirogalol	-23.3232917	-23.9658619	13.2319366
Dopamina	-14.398217	-15.5139297	9.09852825
Bromofenol	-7.64683686	-8.01769527	12.2561586
Bromotiofenol	-18.482052	-19.4107668	0
anión Quercetina	-19.2093361	-19.6780861	15.9327397

Es posible identificar tres principales características:

La primera de ellas es la tendencia a que la energía libre de reacción es muy similar a la entalpía de reacción, esto se debe a la molecularidad de la reacción, ya que al tener dos reactivos y dos productos, el valor de $-T\Delta S$ es muy cercano a 0, ya que no se ve modificada de manera significativa la entropía de la reacción.

Otra característica que tienen en común los resultados es que todas las reacciones son de carácter exergónico y exotérmico, cuyos ΔG y ΔG^\ddagger van de -23.3 kcal/mol a -7.65 kcal/mol y de 0 kcal/mol a 15.93kcal/mol respectivamente, por lo que se puede afirmar que son viables termodinámicamente y son capaces de realizar una reparación sobre el carbono 4' de la Guanosina.

Además, se observa que no hay una barrera de activación para la reacción de transferencia de hidrógeno para el antioxidante 4-Bromotiofenol por lo que este estado de transición ocurre únicamente por difusión como se discutirá más adelante, la variación de energía se ve mejor representado en el diagrama siguiente que corresponde a la figura 29.

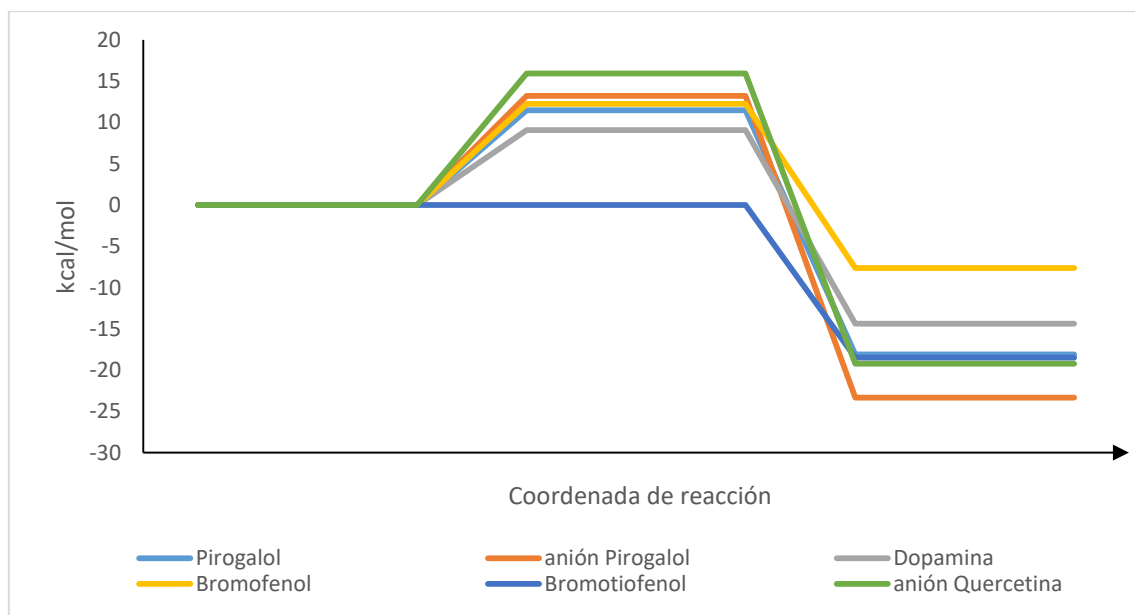


Figura 29. Diagrama de energía de activación de los distintos antioxidantes fenólicos para reparación HAT del carbono 4' de la Ganosina

Esto se puede deber a la labilidad del enlace azufre-hidrógeno, así como la similitud que tiene este heteroátomo con la molécula encargada de realizar esta reparación en el cuerpo humano que corresponde al Glutatió⁴⁷ el cual también dona el hidrógeno enlazado al azufre.

Del mismo diagrama se puede notar de mejor manera que la energía de activación más grande corresponde a la reacción de reparación del anión quercetina, molécula que tiene una estructura de flavonoide y su función como antioxidante se ve distribuida entre el tipo primario y el tipo secundario debido a su estructura con dos anillos aromáticos, los cuales pueden absorber la radiación ionizante, y debido a esta misma estructura, tiene más dificultad en acercarse a la posición de reparación necesaria en el nucleótido de Guanosina. El anión Pirogalol tiene la segunda energía de activación más alta, sin embargo tiene la energía de reacción más exergónica, lo que indica que la estabilidad de este residuo de la reparación es más alta que las demás moléculas al contener varios oxígenos donando densidad electrónica al anillo y por lo tanto es capaz de estabilizar un radical con mayor facilidad. Esto se refleja de igual manera en que la segunda energía de reacción más baja corresponde al anión de quercetina, que debido al mismo efecto es un residuo más estable en comparación a los demás. Debido a que todas las especies estudiadas contienen un anillo aromático comparten en mayor o menor medida esta característica, lo cual es una consecuencia favorable de la reparación química por antioxidantes.

En el caso de las moléculas que contienen un grupo desactivante del benceno como lo es el bromo, afecta la estabilidad del anillo en presencia de un radical debido a la alta densidad electrónica de este átomo. Por lo que la reparación aunque se lleva a cabo, la especie radical bromofenol no es la más estable entre todos los antioxidantes comparados.

14.2 Reparación por mecanismo SET

Para las reacciones de transferencia de un electrón, se pueden observar en la tabla 8 resultados de energía libre de reacción que van desde los -28.67 kcal/mol a los 9.09 kcal/mol, esto se debe a que la transferencia de un electrón de las especies con mayor densidad está favorecida debido a los efectos de resonancia aromática, así como la disponibilidad de la carga de ser transferida de una molécula a otra.

Tabla 8. Resultados termodinámicos para la reparación de transferencia de un electrón.

	ΔG (kcal/mol)	ΔG^\ddagger (kcal/mol)
Pirogalol	0.41170931	7.10676833
anión Pirogalol	-28.6683591	0.05503017
Dopamina	0.43429967	5.1533654
Bromofenol	9.08515253	11.9000615
anión Bromofenol	-22.1912009	0.04022009
Bromotiofenol	8.88183929	11.3817063
anión Bromotiofenol	-27.5651965	4.58087037
Quercetina	-0.67953058	6.58574404
anión Quercetina	-22.8519689	0.03191006

Esta variación de energías tanto de reacción como de activación puede ser mejor visualizada en el siguiente diagrama, donde se pueden discernir hasta 3 grupos distintos, aquellas reacciones que son totalmente exergónicas, unas que son aproximadamente isoergónicas y aquellas que son endergónicas.

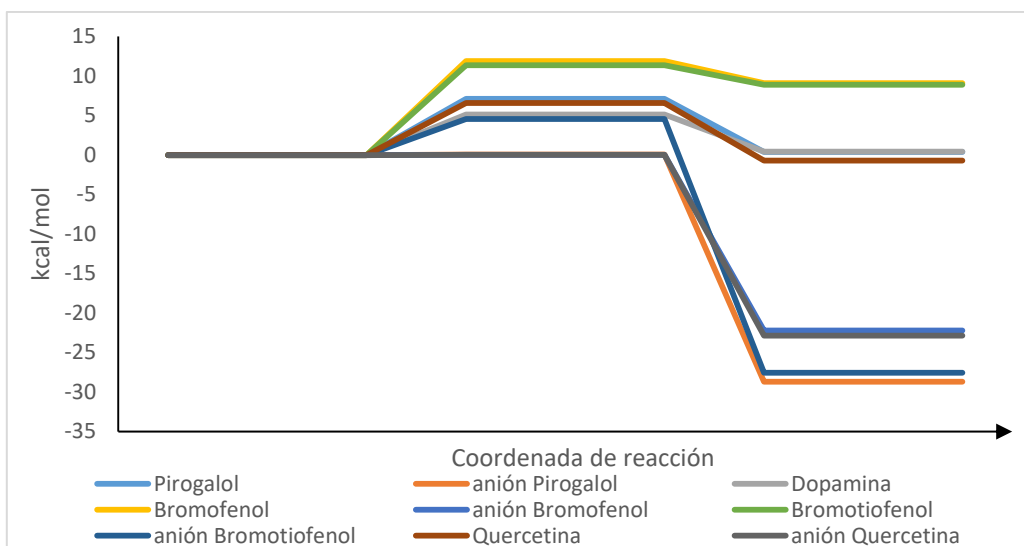


Figura 30. Diagrama de energía de activación de los distintos antioxidantes fenólicos para reparación SET del catión radical Guanosina.

Para poder analizar de manera coherente los resultados de esta reparación, separamos los 3 grupos en distintitos diagramas, dejando fuera aquellas reacciones que son endergónicas que corresponden al bromofenol y bromotiofenol por lo que no son termodinámicamente viables debido a que sus productos son cationes radicales que no son estables debido a la desactivación del anillo aromático debido al átomo de bromo.

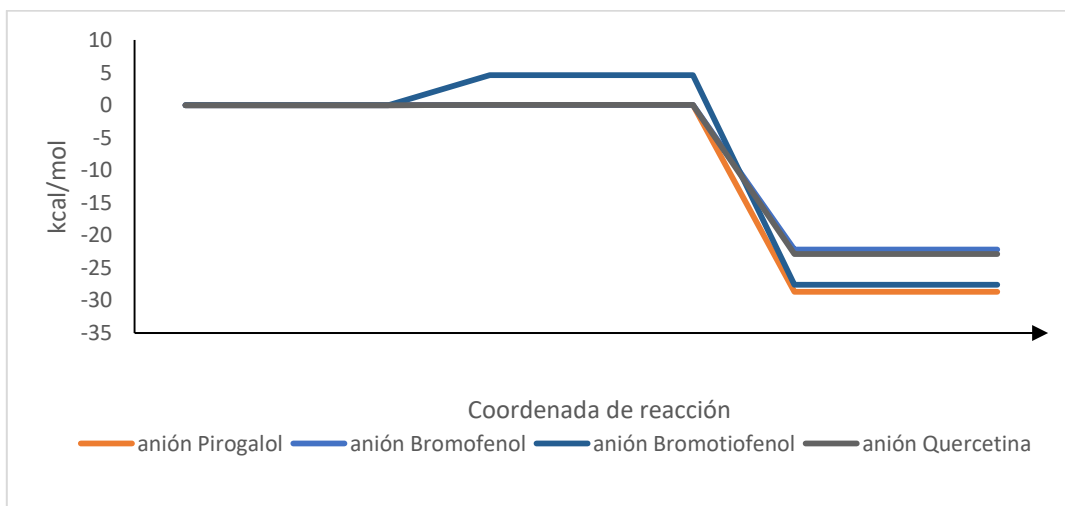


Figura 31. Diagrama de energía de activación de los antioxidantes fenólicos anionicos para reparación SET del catión radical Guanosina.

En la figura 31, se puede notar que las reacciones que son altamente exergónicas, de igual manera las barreras de activación son muy bajas con una energía de activación entre 0 y 5 kcal/mol, y que corresponden a todos los antioxidantes en su forma aniónica.

Como ya se mencionó, esto se debe tanto a la estabilidad de los radicales libres correspondientes a los aniones, así como la disponibilidad del electrón a ser donado debido a que el potencial de ionización de los aniones antioxidantes es menor que las especies neutras como se puede observar en la tabla 9, estas son las reacciones que más probablemente sean capaces de evitar la propagación del daño del nucleótido Guanosina.

Tabla 9. Potenciales de ionización calculados para las especies involucradas en la transferencia de un electrón.

	PI (kJ/mol)
Pirogalol	555.017
anión Pirogalol	434.528
Bromofenol	590.954
anión Bromofenol	461.365
Bromotiofenol	590.112
anión Bromotiofenol	439.098
Quercetina	550.495
anión Quercetina	458.627

Los valores tan bajos de energía libre de reacción de la figura 31 son resultado de que esta donación genera especies altamente estables ya que difícilmente podrían reaccionar donando el electrón restante.

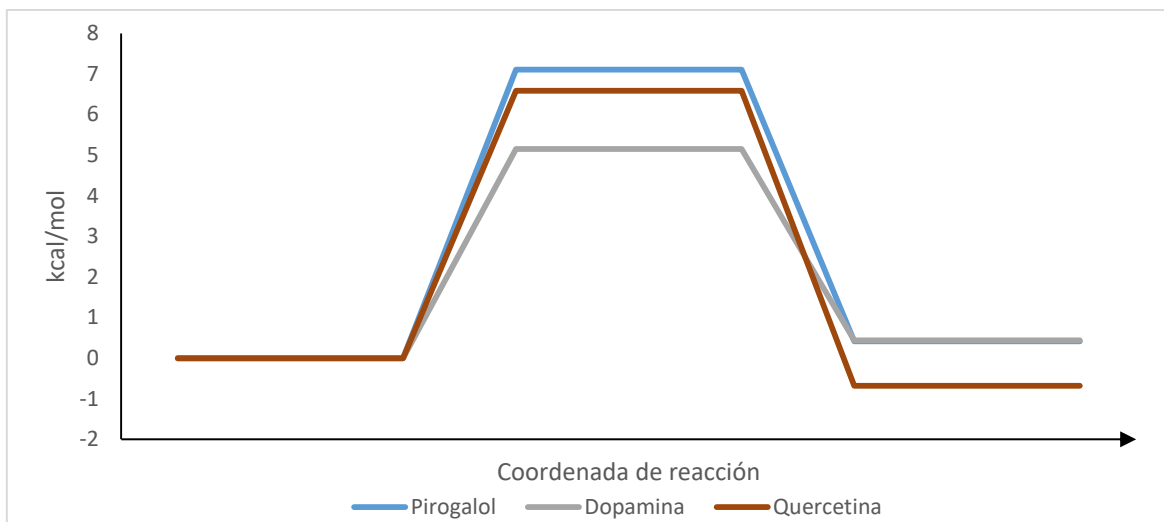


Figura 32. Diagrama de energía de activación de los antioxidantes fenólicos neutros para reparación SET del catión radical Guanosina.

En la figura 32, se observan las reacciones que se encuentran en equilibrio entre su forma neutra y su catión radical, con valores de sus energías libres de reacción entre -1 y 1 kcal/mol, debido a que son reacciones isoenergónicas y dependen de un equilibrio. Se calculó la constante de velocidad para evaluar la rapidez con la que los átomos de oxígeno con electrones en su capa de valencia son capaces de reparar por mecanismo SET.

15 Constantes de velocidad de la reparación.

Los procesos de reparación ocurren por diferentes mecanismos, por lo que no pueden ser evaluados de manera conjunta, ya que el mecanismo HAT ocurre en el sitio específico del radical 4' de la porción ribosa en el nucleótido y este es el mecanismo es el más abundante en radicales centrados en Carbono. De otro modo, el mecanismo SET ocurre donando un electrón al catión radical de la Guanosina que se encuentra deslocalizado en la base nitrogenada o en la ribosa.

Cómo referencia a la eficiencia de la reparación, los resultados de las constantes de velocidad son comparados con la constante de velocidad del anión Glutati6n calculada te6ricamente para el proceso de transferencia de hidr6geno, que se encuentra en un rango de $\sim 10^7$ a $\sim 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$.⁴⁸

Debido a que esta mol6cula no es capaz de realizar una reparaci6n por el proceso de transferencia de un electr6n, se tomar6 para este segundo mecanismo como referencia la constante del l6mite de velocidad controlado por difusi6n que es del orden $< \sim 10^{10}$.

15.1 Reparaci6n del radical G•.

Las especies con una mayor constante de velocidad estudiadas en este trabajo son la dopamina y el bromotiofenol con constantes de velocidad lo suficientemente altas para competir con el Glutati6n. Sin embargo, no es de descartarse la velocidad de reparaci6n de las otras especies ya que el rango en el que se encuentran es suficiente para considerarse una reparaci6n r6pida y viable del radical de Guanosina.

Tabla 10. Constantes de velocidad con y sin influencia de pH.

	HAT		
	k (M ⁻¹ s ⁻¹)	k pH=7.4	k total (M ⁻¹ s ⁻¹)
Pirogalol	2.38E+04	2.35E+04	2.49E+04
anión Pirogalol	1.06E+05	1.38E+03	
Dopamina	1.32E+06	1.26E+06	1.26E+06
Bromofenol	2.16E+04	2.12E+04	2.12E+04
Bromotiofenol	4.35E+09	5.93E+07	5.93E+07
anión Quercetina	4.12E+03	2.76E+03	2.76E+03

Se puede observar en los resultados de la tabla 10 la influencia que tiene el pH sobre la constante de velocidad, especialmente para la especie bromotiofenol, ya que a pesar de no tener barrera de activación y estar aparentemente controlada por difusión, se disminuye en 2 órdenes de magnitud el valor de la constante debido a la baja fracción molar que presenta a condiciones fisiológicas al encontrarse mayormente protonada debido a su equilibrio ácido base en disolución.

15.2 Reparación del catión radical G^{•+}.

Para prevenir el posterior daño a la Guanosina, la estabilización del catión radical debe ser mucho más rápida que la del mecanismo de transferencia de hidrógeno, esto es debido a que la pérdida del protón de la reacción $G^{•+} \rightarrow G^{\bullet}(H^+)$ es un proceso limitado por difusión, por lo que las constantes de velocidad para la Quercetina, anión bromotiofenol y dopamina que se muestran en la tabla 11 son capaces de realizar esta reparación.

Tabla 11. Constantes de velocidad con y sin influencia de pH.

	SET		
	k (M ⁻¹ s ⁻¹)	k pH=7.4	k total (M ⁻¹ s ⁻¹)
Pirogalol	3.81E+07	3.76E+07	9.51E+07
anión Pirogalol	4.41E+09	5.75E+07	
Dopamina	1.03E+09	9.83E+08	9.83E+08
Bromofenol	-	-	5.54E+07
anión Bromofenol	4.26E+09	5.54E+07	
Bromotiofenol	-	-	1.65E+09
anión Bromotiofenol	1.68E+09	1.65E+09	
Quercetina	9.18E+07	6.30E+06	2.64E+09
anión Quercetina	3.93E+09	2.63E+09	

Como era de esperarse debido a los resultados termodinámicos de la tabla 8, el bromofenol y el bromotiofenol en su forma neutra no aportan nada a la reparación del catión radical, sin embargo por la barrera energética tan baja de sus fracciones aniónicas, tienen una constante de velocidad alta.

Del mismo modo que en el mecanismo anterior, para las especies pirogalol y bromofenol, a pesar de no tener una constante de velocidad lo suficientemente alta para ser competitiva, sí se tratan de reacciones rápidas que pueden contribuir a la prevención del daño al ADN.

Conclusiones.

El estudio utilizando funcionales de la densidad, de la reparación química de la Guanosina fue llevado a cabo utilizando una metodología para evaluar la actividad antioxidante de distintas moléculas fenólicas, o en el caso del tiofenol un análogo al fenol, donde se encontraron resultados favorables para este tipo de estructuras. En concreto, 2 de ellas dieron resultados óptimos de reparación, tratándose de la Dopamina y el 4-Bromotiofenol, debido a que los grupos funcionales que presentan se comparten en distintas moléculas dentro del cuerpo humano.

La eficiencia de los antioxidantes fenólicos fue evaluada encontrando resultados termodinámicamente viables en los dos tipos de mecanismos estudiados con constantes de velocidad que van desde $\sim 10^4$ a $\sim 10^8 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ para las reacciones de reparación que van por la vía HAT, que repara el daño del radical Guanosina. Y para el mecanismo SET constantes de $\sim 10^7$ a $\sim 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ que repara el catión radical del nucleótido.

Referencias

- ¹ "The Nobel Prize in Chemistry 2015". Nobelprize.org. Nobel Media AB 2014. Web. 14 Aug 2017. <http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/2015/>
- ² Zheng R, Shi Y, Jia Z, Zhao C, Zhang Q, Tan X. Fast repair of DNA radicals. *Chemical Society Reviews*. 2010;39(8):2827. doi:10.1039/b924875g.
- ³ Schafer F, Buettner G. Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. *Free Radical Biology and Medicine*. 2001;30(11):1191-1212. doi:10.1016/s0891-5849(01)00480-4.
- ⁴ Galano, A., & Alvarez-Idaboy, J. (2012). On the evolution of one-electron-oxidized deoxyguanosine in damaged DNA under physiological conditions: a DFT and ONIOM study on proton transfer and equilibrium. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 14(36), 12476. <http://dx.doi.org/10.1039/c2cp40799j>
- ⁵ Shukla, M. and Leszczynski, J. (2008). Radiation induced molecular phenomena in nucleic acids. 1st ed. [Dordrecht]: Springer.
- ⁶ Kumar, A. and Sevilla, M. D. (2009) Theoretical Modeling of Radiation-Induced DNA Damage, in *Radical and Radical Ion Reactivity in Nucleic Acid Chemistry* (ed M. M. Greenberg), John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA. doi: 10.1002/9780470526279.ch1.
- ⁷ Watson, J. (2014). *Molecular biology of the gene*. 3rd ed. Boston: Benjamin-Cummings Publishing Company, p.68.
- ⁸ Lehninger, A., Nelson, D., Cox, M., Tilberry, S., Landau, A. and Waites, J. (2015). *Principles of biochemistry*. 4th ed. New York: Worth,.
- ⁹ De Bont R, van Larebeke N. (2004) Endogenous DNA damage in humans: a review of quantitative data. *Mutagenesis* 19(3):169-185. Review. PMID 15123782
- ¹⁰ Shahidi, F., Janitha, P., & Wanasundara, P. (1992). Phenolic antioxidants. *Critical Reviews In Food Science And Nutrition*, 32(1), 67-103. <http://dx.doi.org/10.1080/10408399209527581>
- ¹¹ Christensen, L., & Christensen, K. (2014). The Role of Direct and Indirect Polyphenolic Antioxidants in Protection Against Oxidative Stress. *Polyphenols In Human Health And Disease*, 289-309. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-398456-2.00023-2>
- ¹² Ray, P., Huang, B., & Tsuji, Y. (2012). Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cellular Signalling*, 24(5), 981-990. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cellsig.2012.01.008>
- ¹³ Tiwari, S., Rohilla A., Rohilla S., Kushnoor A. (2012). Reactive oxygen species: a comprehensive review. *International Journalof Current Pharmaceutical Research*. (4)3, 19-23.
- ¹⁴ Galano, A., Mazzone, G., Alvarez-Diduk, R., Marino, T., Alvarez-Idaboy, J., & Russo, N. (2016). Food Antioxidants: Chemical Insights at the Molecular Level. *Annual Review Of Food Science And Technology*, 7(1), 335-352. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-food-041715-033206>
- ¹⁵ Koppenol, W. (2001). The Haber-Weiss cycle – 70 years later. *Redox Report*, 6(4), 229-234. <http://dx.doi.org/10.1179/135100001101536373>.
- ¹⁶ Bielski BHJ. Re-evaluation of the spectral and kinetic properties of HO₂ and O₂ – free radicals. *Photochem Photobiol* 1978; 28: 645–649.

-
- ¹⁷ Hsieh, Y., & Hsieh, Y. (2000). Kinetics of Fe(III) Reduction by Ascorbic Acid in Aqueous Solutions. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 48(5), 1569-1573. <http://dx.doi.org/10.1021/jf9904362>.
- ¹⁸ Galano, A.; Alvarez-Idaboy, J. Guanosine + OH Radical Reaction In Aqueous Solution: A Reinterpretation Of The UV–Vis Data Based On Thermodynamic And Kinetic Calculations. *Organic Letters* 2009, 11, 5114-5117.
- ¹⁹ Swarts, S.; Gilbert, D.; Sharma, K.; Razskazovskiy, Y.; Purkayastha, S.; Naumenko, K.; Bernhard, W. Mechanisms Of Direct Radiation Damage In DNA, Based On A Study Of The Yields Of Base Damage, Deoxyribose Damage, And Trapped Radicals In D(GCACGCGTGC)2. *Radiation Research* 2007, 168, 367-381.
- ²⁰ Khanduri, D.; Collins, S.; Kumar, A.; Adhikary, A.; Sevilla, M. Formation Of Sugar Radicals In RNA Model Systems And Oligomers Via Excitation Of Guanine Cation Radical. *The Journal of Physical Chemistry B* 2008, 112, 2168-2178.
- ²¹ Galano, A.; Alvarez-Idaboy, J. On The Evolution Of One-Electron-Oxidized Deoxyguanosine In Damaged DNA Under Physiological Conditions: A DFT And ONIOM Study On Proton Transfer And Equilibrium. *Physical Chemistry Chemical Physics* 2012, 14, 12476.
- ²² A proton–electron sequential transfer mechanism: theoretical evidence about its biological relevance
- ²³ Proton-Coupled Electron Transfer versus Hydrogen Atom Transfer: Generation of Charge-Localized Diabatic States
- ²⁴ The role of acid–base equilibria in formal hydrogen transfer reactions: tryptophan radical repair by uric acid as a paradigmatic case
- ²⁵ Cuevas, G. *Introducción A La Química Computacional*; Fondo de Cultura Económica: México, 2003.
- ²⁶ Szabo, A. (2012). *Modern Quantum Chemistry*. Dover Publications.
- ²⁷ Hohenberg, P. and Kohn, W. 1964. *Phys. Rev.*, 136, B864.
- ²⁸ Kohn, W. and Sham, L. J. 1965. *Phys. Rev.*, 140, A1133.
- ²⁹ Jensen, F. (2017). *Introduction to computational chemistry*.
- ³⁰ Perdew, J. (2001). Jacob’s ladder of density functional approximations for the exchange–correlation energy. *AIP Conference Proceedings*. doi: 10.1063/1.1390175
- ³¹ Hohenstein, E., Chill, S., & Sherrill, C. (2008). Assessment of the Performance of the M05–2X and M06–2X Exchange–Correlation Functionals for Noncovalent Interactions in Biomolecules. *Journal Of Chemical Theory And Computation*, 4(12), 1996-2000. doi: 10.1021/ct800308k
- ³² Levine, I., Castro Vitores, M. and González Ureña, Á. (2004). *Fisicoquímica Vol. II*. [S.I.]: McGraw-Hill.
- ³³ Evans, M. and Polanyi, M. (1935). Some applications of the transition state method to the calculation of reaction velocities, especially in solution. *Transactions of the Faraday Society*, 31, p.875.
- ³⁴ Eyring, H. (1935). The Activated Complex and the Absolute Rate of Chemical Reactions. *Chemical Reviews*, 17(1), pp.65-77.
- ³⁵ By Chem540grp1f08 - Own work, CC BY-SA 3.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=5318731>

-
- ³⁶ Gray, H. (1996). Electron Transfer in Proteins. *Annual Review of Biochemistry*, 65(1), pp.537-561.
- ³⁷ Marcus, R. (1993). Electron transfer reactions in chemistry. Theory and experiment. *Reviews of Modern Physics*, 65(3), pp.599-610.
- ³⁸ Galano, A.; Alvarez-Idaboy, J. A Computational Methodology For Accurate Predictions Of Rate Constants In Solution: Application To The Assessment Of Primary Antioxidant Activity. *Journal of Computational Chemistry* 2013, 34, 2430-2445.
- ³⁹ Zhao, Y.; Schultz, N.; Truhlar, D. Design Of Density Functionals By Combining The Method Of Constraint Satisfaction With Parametrization For Thermochemistry, Thermochemical Kinetics, And Noncovalent Interactions. *Journal of Chemical Theory and Computation* 2006, 2, 364-382.
- ⁴⁰ Churchill, C.; Wetmore, S. Developing A Computational Model That Accurately Reproduces The Structural Features Of A Dinucleoside Monophosphate Unit Within B-DNA. *Physical Chemistry Chemical Physics* 2011, 13, 16373.
- ⁴¹ Hohenstein, E.; Chill, S.; Sherrill, C. Assessment Of The Performance Of The M05-2X And M06-2X Exchange-Correlation Functionals For Noncovalent Interactions In Biomolecules. *Journal of Chemical Theory and Computation* 2008, 4, 1996-2000.
- ⁴² Marenich, A.; Cramer, C.; Truhlar, D. Universal Solvation Model Based On Solute Electron Density And On A Continuum Model Of The Solvent Defined By The Bulk Dielectric Constant And Atomic Surface Tensions. *The Journal of Physical Chemistry B* 2009, 113, 6378-6396.
- ⁴³ Muñoz, L. (2017). Estudio Teórico de la Reparación del Daño Causado por Radicales Libres de Modelos Proteicos y Lipídicos y sus Mecanismos de Acción. (Tesis Doctoral). Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México.
- ⁴⁴ Brown, R. (1981). A Method of Calculating Tunneling Corrections for Eckart Potential Barriers. *Journal of Research of the National Bureau of Standards*, 86(4), p.357.
- ⁴⁵ Galano, A.; Pérez-González, A.; Castañeda-Arriaga, R.; Muñoz-Rugeles, L.; Mendoza-Sarmiento, G.; Romero-Silva, A.; Ibarra-Escutia, A.; Rebollar-Zepeda, A.; León-Carmona, J.; Hernández-Olivares, M. et al. Empirically Fitted Parameters For Calculating Pka Values With Small Deviations From Experiments Using A Simple Computational Strategy. *Journal of Chemical Information and Modeling* 2016, 56, 1714-1724.
- ⁴⁶ Álvarez-Diduk, R., Ramírez-Silva, M., Galano, A., & Merkoçi, A. (2013). Deprotonation Mechanism and Acidity Constants in Aqueous Solution of Flavonols: a Combined Experimental and Theoretical Study. *The Journal Of Physical Chemistry B*, 117(41), 12347-12359. doi: 10.1021/jp4049617.
- ⁴⁷ Pellmar, T., Roney, D., & Lepinski, D. (1992). Role of glutathione in repair of free radical damage in hippocampus in vitro. *Brain Research*, 583(1-2), 194-200. doi: 10.1016/s0006-8993(10)80024-1
- ⁴⁸ Alvarez-Idaboy, J., & Galano, A. (2012). On the Chemical Repair of DNA Radicals by Glutathione: Hydrogen vs Electron Transfer. *The Journal Of Physical Chemistry B*, 116(31), 9316-9325. doi: 10.1021/jp303116n