



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS**

**ACTIVIDAD REPARADORA Y PRO-OXIDANTE DE TIOFENOLES**

**T E S I S**

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

**MAESTRA EN CIENCIAS**

P R E S E N T A

Q. MIRZAM ANDREA CARREÓN GONZÁLEZ

DR. JUAN RAÚL ÁLVAREZ IDABOY

FACULTAD DE QUÍMICA

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX., JUNIO DE 2019



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

**JURADO:**

**Presidente:** Dr. José Pedraza Chaverri

**Vocal:** Dra. Ana María Martínez Vázquez

**Vocal:** Dr. Jorge Martín del Campo Ramírez

**Vocal:** Dra. Adriana Pérez González

**Secretario:** Dr. José Enrique Barquera Lozada

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Dr. Juan Raúl Álvarez Idaboy por su asesoría, sus enseñanzas, su apoyo, su paciencia pero, sobre todo, por su maravillosa amistad. Gracias por creer en mí y por ayudarme a creer en mi misma.

Al Dr. Leonardo Muñoz Rugeles por todas sus enseñanzas y por sus valiosas contribuciones para el desarrollo de la presente tesis.

A los miembros de mi jurado, el Dr. José Pedraza Chaverri, la Dra. Ana María Martínez Vázquez, el Dr. Jorge Martín del Campo Ramírez, la Dra. Adriana Pérez González y el Dr. José Enrique Barquera Lozada, por todos sus comentarios, sugerencias y contribuciones en pro de la mejora del presente trabajo.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y la Facultad de Química.

Al Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas. Gracias a todos los miembros de la coordinación y al personal académico por todo el apoyo y la asistencia brindada durante mi estancia en el programa.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo económico brindado a través de la beca No. 619924.

A la Dirección General de Cómputo y de Tecnologías de la Información y Comunicación, DGTIC, por los recursos computacionales proporcionados.

**El presente trabajo de tesis fue desarrollado en:**

Departamento de Física y Química Teórica, Facultad de Química, División de Estudios de Posgrado, Edificio B, Universidad Nacional Autónoma de México.

**Bajo la supervisión de:**

Dr. Juan Raúl Álvarez Idaboy.

**Parte de los resultados de este trabajo fueron presentados en:**

- QuimiUNAM 2018, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, México. Agosto 2018.
- XLIV Congreso Internacional de Químicos Teóricos de Expresión Latina, QUITEL 2018, Centro de Extensión de la Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago de Chile, Chile. Octubre 2018.
- XVII Reunión Mexicana de Fisicoquímica Teórica, Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey, Campus Monterrey, Monterrey, Nuevo León, México. Noviembre 2018.

*« Una vez me reí al leer que un artista había buscado un color en particular durante muchos días y noches; ahora ya no me río. Sollocé al contemplar ese color en el océano; ¿ cómo puede un simple color provocar lágrimas? »»*

*Ludwig E. Boltzmann.*

# ÍNDICE

Abreviaturas .....	8
Lista de Tablas.....	10
Lista de Figuras.....	12
Lista de Esquemas.....	16
Resumen .....	17
Capítulo I. Introducción.....	18
Capítulo II. Marco Teórico .....	23
2.1 Mecanismos de reacción .....	23
2.1.1 Mecanismos de Transferencia Formal de Hidrógeno .....	27
2.2 Métodos de solvatación .....	33
2.3 Teoría del estado de transición.....	35
2.3.1 Correcciones a la <i>TST</i> .....	38
2.4 Teoría de Marcus.....	43
2.5 Constantes de acidez y fracciones molares.....	45
2.6 Constantes totales y constantes globales.....	47
Capítulo III. Hipótesis y objetivos .....	49
3.1 Hipótesis .....	49
3.2 Objetivo general.....	49
3.3 Objetivos particulares .....	49
Capítulo IV. Metodología.....	51
4.1 Actividad antioxidante secundaria.....	52
4.2 Capacidad pro-oxidante .....	57

Capítulo V. Resultados.....	60
5.1 Equilibrios ácidos–base y $pK_a$ 's.....	62
5.2 Reparación de leucina .....	65
5.3 Reparación de triptófano.....	77
5.4 Reparación de sistemas peptídicos .....	87
5.5 Actividad pro–oxidante .....	94
Capítulo VI. Conclusiones .....	99
Referencias .....	102
Anexos .....	116
A1. Teoría de los Funcionales de la Densidad .....	116
A2. Funciones de base .....	120
A3. Análisis poblacional .....	124

## Abreviaturas

$AE$  = Afinidad electrónica.

$AH$  = Antioxidante.

$\alpha$  = Fracción molar.

$DFT$  = Teoría de los funcionales de la densidad (por sus siglas en inglés).

$\Delta G_{rxn}^{\circ}$  = Energía libre de Gibbs de reacción.

$\Delta G^{\ddagger}$  = Energía libre de Gibbs de activación.

$e^{-}$  = Electrón.

$EI$  = Energía de ionización.

$EO$  = Estrés oxidativo.

$EPST$  = Transferencia secuencial de electrón–protón (por sus siglas en inglés).

$FHT$  = Transferencia formal de hidrógeno (por sus siglas en inglés).

$HAT$  = Transferencia de átomo de hidrógeno (por sus siglas en inglés).

$H^{+}$  = Protón.

$HO^{\bullet}$  = Radical hidroxilo.

$IRC$  = Coordenada intrínseca de reacción (por sus siglas en inglés).

$k_{app}$  = Constante aparente.

$K_a$  = Constante de acidez.

$k_{global}$  = Constante de velocidad global.

$k_{tot}$  = Constante de velocidad total.

$PCET$  = Transferencia acoplada de protón–electrón (por sus siglas en inglés).

$PEST$  = Transferencia secuencial de protón–electrón (por sus siglas en inglés).

$PT$  = Transferencia de protón (por sus siglas en inglés).

*QM – ORSA* = Quantum mechanics–based test for overall free radical scavenging activity.

*ROS* = Especies reactivas de oxígeno (por sus siglas en inglés).

*RAF* = Formación de aducto radical (por sus siglas en inglés).

*R•* = Radical libre.

*SAPG* = Ganancia de protón asistida por solvente (por sus siglas en inglés).

*SAPL* = Pérdida de protón asistida por solvente (por sus siglas en inglés).

*SET* = Transferencia de un electrón (por sus siglas en inglés).

*SMD* = Modelo de solvatación continuo basado en la densidad (por sus siglas en inglés).

*SPGET* = Transferencia secuencial de ganancia de protón–electrón (por sus siglas en inglés).

*SPLET* = Transferencia secuencial de pérdida de protón–electrón (por sus siglas en inglés).

*SPLHAT* = Transferencia secuencial de pérdida de protón–átomo de hidrógeno (por sus siglas en inglés).

*TS* = Estado de transición (por sus siglas en inglés).

*TST* = Teoría del estado de transición (por sus siglas en inglés).

*TrpN•* = Radical triptofanil.

## Lista de Tablas

<b>Tabla 1.</b> Antioxidantes clasificados con base a su origen.....	20
<b>Tabla 2.</b> Mecanismos de reacción y sus principales características.....	24
<b>Tabla 3.</b> Energía libre de Gibbs de reacción a 298.15 K y $pK_a$ 's con M06-2X.....	63
<b>Tabla 4.</b> Constantes de acidez y fracciones molares a $pH = 7.4$ y 298.15 K en medio acuoso. Nivel de cálculo M06-2X/6-31++G(d,p).....	64
<b>Tabla 5.</b> Energía libre de Gibbs de reacción ( $\Delta G_{rxn}^\circ$ , kcal/mol) a 298.15 K para las reacciones de reparación de leucina en medio acuoso y lipídico. Nivel de cálculo M06-2X/6-31++G(d,p).....	66
<b>Tabla 6.</b> Energía libre de activación y constantes de velocidad en medio acuoso a 298.15 K para la reparación de leucina. Nivel de cálculo M06-2X/6-31++G(d,p).....	68
<b>Tabla 7.</b> Energía libre de activación y constantes de velocidad en medio lipídico a 298.15 K para la reparación de leucina. Nivel de cálculo M06-2X/6-31++G(d,p).....	69
<b>Tabla 8.</b> Energía libre de Gibbs de reacción ( $\Delta G_{rxn}^\circ$ , kcal/mol) a 298.15 K para las reacciones de reparación de triptófano en medio acuoso y lipídico. Nivel de cálculo M06-2X/6-31++G(d,p).....	77
<b>Tabla 9.</b> Energía libre de activación y constantes de velocidad en medio acuoso a 298.15 K para la reparación de triptófano. Nivel de cálculo M06-2X/6-31++G(d,p).....	78
<b>Tabla 10.</b> Constantes de velocidad ( $M^{-1}s^{-1}$ ) en medio acuoso a 298.15 K para la reparación de triptófano. Nivel de cálculo M06-2X/6-31++G(d,p).....	79
<b>Tabla 11.</b> Energía libre de activación y constantes de velocidad en medio lipídico a 298.15 K para la reparación de triptófano. Nivel de cálculo M06-2X/6-31++G(d,p).....	81
<b>Tabla 12.</b> Energía libre de Gibbs de reacción ( $\Delta G_{rxn}^\circ$ , kcal/mol) a 298.15 K para las reacciones de reparación del péptido de leucina en medio acuoso y lipídico. Nivel de cálculo M06-2X/6-31++G(d,p).....	88
<b>Tabla 13.</b> Energía libre de activación y constantes de velocidad en medio acuoso a 298.15 K para la reparación del péptido de leucina. Nivel de cálculo M06-2X/6-31++G(d,p).....	89

<b>Tabla 14.</b> Energía libre de activación y constantes de velocidad en medio lipídico a 298.15 K para la reparación del péptido de leucina. Nivel de cálculo M06-2X/6-31++G(d,p).....	90
<b>Tabla 15.</b> Energía libre de Gibbs de reacción ( $\Delta G_{rxn}^{\circ}$ , kcal/mol) a 298.15 K para las reacciones de reparación del péptido de triptófano en medio acuoso y lipídico. Nivel de cálculo M06-2X/6-31++G(d,p).....	91
<b>Tabla 16.</b> Energía libre de activación y constantes de velocidad en medio acuoso a 298.15 K para la reparación del péptido de triptófano. Nivel de cálculo M06-2X/6-31++G(d,p).....	92
<b>Tabla 17.</b> Constantes de velocidad ( $M^{-1}s^{-1}$ ) en medio acuoso a 298.15 K para la reparación del péptido de triptófano. Nivel de cálculo M06-2X/6-31++G(d,p).....	93
<b>Tabla 18.</b> Energía libre de activación y constantes de velocidad en medio lipídico a 298.15 K para la reparación del péptido de triptófano. Nivel de cálculo M06-2X/6-31++G(d,p).....	94
<b>Tabla 19.</b> Energía libre de Gibbs de reacción a 298.15 K y $pK_a$ 's. Nivel de cálculo LC- $\omega$ PBE/6-31++G(d,p).....	95
<b>Tabla 20.</b> Constantes de acidez y fracciones molares a $pH = 7.4$ y 298.15 K en medio acuoso. Nivel de cálculo LC- $\omega$ PBE/6-31++G(d,p).....	96
<b>Tabla 21.</b> Energía libre de Gibbs de reacción ( $\Delta G_{rxn}^{\circ}$ ) y de activación ( $\Delta G^{\ddagger}$ ) en kcal/mol a 298.15 K para las reacciones de reducción de Cu(II) en medio acuoso. Nivel de cálculo LC- $\omega$ PBE/6-31++G(d,p).....	97
<b>Tabla 22.</b> Constantes de velocidad ( $M^{-1}s^{-1}$ ) en medio acuoso a 298.15 K para las reacciones de reducción de Cu(II). Nivel de cálculo LC- $\omega$ PBE/6-31++G(d,p).....	98

## Lista de Figuras

<i>Figura 1.</i> Mapa completo de donador - aceptor de electrones (FEDAM, por sus siglas en inglés).....	26
<i>Figura 2.</i> Orbitales SOMO de los TS para el sistema modelo $PhO^*/PhOH$ : (a) con interacciones de apilamiento $\pi$ (mecanismo HAT) y (b) sin apilamiento (mecanismo PCET).....	29
<i>Figura 3.</i> Evolución de cargas NPA y densidad de Hirshfeld con respecto a la IRC para los mecanismos HAT y PCET, respectivamente: (a) carga y (b) espín para el sistema modelo $PhCH_2^*/PhCH_3$ , (c) cargas y (d) espín para el sistema modelo $PhO^*/PhOH$ .....	30
<i>Figura 4.</i> Representación gráfica de la TST. Diagrama de energía potencial como función de la coordenada de reacción.....	36
<i>Figura 5.</i> Diagramas de energía potencial como función de las coordenadas de reacción en un proceso de transferencia electrónica. La superficie de reactivos (R) y productos (P), corresponden a las parábolas azul y anaranjada, respectivamente.....	45
<i>Figura 6.</i> (a) Radical leucina centrado en carbono, en la posición $\gamma$ , (b) radical triptofanil centrado en nitrógeno, (c) modelo peptídico para la leucina y (d) modelo peptídico para el triptófano.....	52
<i>Figura 7.</i> Especies tiofénolicas que funcionan como antioxidantes (nombres IUPAC).....	54
<i>Figura 8.</i> Aminoácidos a $pH = 7.4$ en medio acuoso: (a) leucina zwitteriónica y (b) triptófano zwitteriónico.....	54
<i>Figura 9.</i> Configuraciones hidratadas más estables de (a) $Cu(II)$ y (b) $Cu(I)$ usando un modelo mixto de solvatación.....	59
<i>Figura 10.</i> Mapa completo de donador-aceptor de electrones (FEDAM, por sus siglas en inglés) de las especies tiofénolicas (donadores) con respecto al radical leucina y el radical triptofanil (aceptores) en medio acuoso. Nivel de cálculo M06-2X/6-31++G(d,p).....	61

<b>Figura 11.</b> Patrón de colores usado en los gráficos de evolución de cargas y espín.....	70
<b>Figura 12.</b> Gráfico de evolución de cargas atómicas de Mulliken y de densidad de espín de Hirshfeld para la reacción de reparación entre el radical de leucina y la especie tiofenólica A en medio acuoso (verde) y lipídico (azul).....	71
<b>Figura 13.</b> Gráfico de evolución de cargas atómicas de Mulliken y de densidad de espín de Hirshfeld para la reacción de reparación entre el radical de leucina y la especie tiofenólica B en medio acuoso (verde) y lipídico (azul).....	73
<b>Figura 14.</b> Gráfico de evolución de cargas atómicas de Mulliken y de densidad de espín de Hirshfeld para la reacción de reparación entre el radical de leucina y la especie tiofenólica C en medio acuoso (verde) y lipídico (azul).....	73
<b>Figura 15.</b> Gráfico de evolución de cargas atómicas de Mulliken y de densidad de espín de Hirshfeld para la reacción de reparación entre el radical de leucina y la especie tiofenólica D en medio acuoso (verde) y lipídico (azul).....	74
<b>Figura 16.</b> Gráfico de evolución de cargas atómicas de Mulliken y de densidad de espín de Hirshfeld para la reacción de reparación entre el radical de leucina y la especie tiofenólica E en medio acuoso (verde) y lipídico (azul).....	74
<b>Figura 17.</b> Gráfico de evolución de cargas atómicas de Mulliken y de densidad de espín de Hirshfeld para la reacción de reparación entre el radical de leucina y la especie tiofenólica F en medio acuoso (verde) y lipídico (azul).....	74
<b>Figura 18.</b> Gráfico de evolución de cargas atómicas de Mulliken y de densidad de espín de Hirshfeld para la reacción de reparación entre el radical de leucina y la especie tiofenólica G en medio acuoso (verde) y lipídico (azul).....	75
<b>Figura 19.</b> Gráfico de evolución de cargas atómicas de Mulliken y de densidad de espín de Hirshfeld para la reacción de reparación entre el radical de leucina y la especie tiofenólica H en medio acuoso (verde) y lipídico (azul).....	75
<b>Figura 20.</b> Gráfico de evolución de cargas atómicas de Mulliken y de densidad de espín de Hirshfeld para la reacción de reparación entre el radical de leucina y la especie tiofenólica I en medio acuoso (verde) y lipídico (azul).....	75

**Figura 21.** Gráfico de evolución de cargas atómicas de Mulliken y de densidad de espín de Hirshfeld para la reacción de reparación entre el radical de leucina y la especie tiofenólica J en medio acuoso (verde) y lipídico (azul).....76

**Figura 22.** Gráfico de evolución de cargas atómicas de Mulliken y de densidad de espín de Hirshfeld para la reacción de reparación entre el radical de leucina y la especie tiofenólica K en medio acuoso (verde) y lipídico (azul).....76

**Figura 23.** Gráfico de evolución de cargas atómicas de Mulliken y de densidad de espín de Hirshfeld para la reacción de reparación entre el radical de leucina y la especie tiofenólica L en medio acuoso (verde) y lipídico (azul).....76

**Figura 24.** Gráfico de evolución de cargas atómicas de Mulliken y de densidad de espín de Hirshfeld para la reacción de reparación entre el radical triptofanil y la especie tiofenólica A en medio acuoso (verde) y lipídico (azul).....83

**Figura 25.** Gráfico de evolución de cargas atómicas de Mulliken y de densidad de espín de Hirshfeld para la reacción de reparación entre el radical triptofanil y la especie tiofenólica B en medio acuoso (verde) y lipídico (azul).....83

**Figura 26.** Gráfico de evolución de cargas atómicas de Mulliken y de densidad de espín de Hirshfeld para la reacción de reparación entre el radical triptofanil y la especie tiofenólica C en medio acuoso (verde) y lipídico (azul).....84

**Figura 27.** Gráfico de evolución de cargas atómicas de Mulliken y de densidad de espín de Hirshfeld para la reacción de reparación entre el radical triptofanil y la especie tiofenólica D en medio acuoso (verde) y lipídico (azul).....84

**Figura 28.** Gráfico de evolución de cargas atómicas de Mulliken y de densidad de espín de Hirshfeld para la reacción de reparación entre el radical triptofanil y la especie tiofenólica E en medio acuoso (verde) y lipídico (azul).....84

**Figura 29.** Gráfico de evolución de cargas atómicas de Mulliken y de densidad de espín de Hirshfeld para la reacción de reparación entre el radical triptofanil y la especie tiofenólica F en medio acuoso (verde) y lipídico (azul).....85

**Figura 30.** Gráfico de evolución de cargas atómicas de Mulliken y de densidad de espín de Hirshfeld para la reacción de reparación entre el radical triptofanil y la especie tiofenólica H en medio acuoso (verde) y lipídico (azul).....85

**Figura 31.** Gráfico de evolución de cargas atómicas de Mulliken y de densidad de espín de Hirshfeld para la reacción de reparación entre el radical triptofanil y la especie tiofenólica J en medio acuoso (verde) y lipídico (azul).....85

**Figura 32.** Gráfico de evolución de cargas atómicas de Mulliken y de densidad de espín de Hirshfeld para la reacción de reparación entre el radical triptofanil y la especie tiofenólica L en medio acuoso (verde) y lipídico (azul).....86

## Lista de Esquemas

<i>Esquema 1. Mecanismos FHT de tipo concertado: transferencia de átomo de hidrógeno (HAT, por sus siglas en inglés) y transferencia acoplada de protón–electrón (PCET, por sus siglas en inglés).....</i>	<i>28</i>
<i>Esquema 2. Mecanismo de transferencia secuencial de protón–electrón (PEST, por sus siglas en inglés).....</i>	<i>31</i>
<i>Esquema 3. Mecanismo de transferencia secuencial de electrón–protón (EPST, por sus siglas en inglés).....</i>	<i>31</i>
<i>Esquema 4. Mecanismo de transferencia secuencial de pérdida de protón–electrón (SPLET, por sus siglas en inglés). Pérdida de protón asistida por solvente (SAPL, por sus siglas en inglés) y ganancia de protón asistida por solvente (SAPG, por sus siglas en inglés).....</i>	<i>32</i>
<i>Esquema 5. Mecanismo de transferencia secuencial de ganancia de protón–electrón (SPGET, por sus siglas en inglés).....</i>	<i>32</i>
<i>Esquema 6. Mecanismos bajo análisis. Antioxidante (AH), radical libre (R<sup>•</sup>), transferencia de un electrón (SET, por sus siglas en inglés), transferencia de un átomo de hidrógeno (HAT, por sus siglas en inglés), transferencia acoplada de protón–electrón (PCET, por sus siglas en inglés), transferencia de protón (PT, por sus siglas en inglés). Desviación a la derecha (azul) transferencia secuencial de electrón–protón (EPST, por sus siglas en inglés) y desviación a la izquierda (morado) transferencia secuencial de protón–electrón (PEST, por sus siglas en inglés).....</i>	<i>33</i>
<i>Esquema 7. Modelado de los mecanismos SET y FHT a pH = 7.4 en medio acuoso y lipídico.....</i>	<i>55</i>
<i>Esquema 8. Reacción Fenton.....</i>	<i>57</i>
<i>Esquema 9. Modelo de la reacción general oxido–reducción vía SET a pH = 7.4 en medio acuoso.....</i>	<i>58</i>
<i>Esquema 10. Equilibrio ácido–base del triptófano.....</i>	<i>62</i>

# Resumen

---

Se ha demostrado que los tiofenoles son especies químicas con múltiples propiedades biológicas deseables entre las que figura su capacidad antioxidante<sup>1</sup>, antiviral<sup>2,3</sup>, antibacteriana<sup>3</sup> y antifúngica<sup>3</sup>, sin embargo, poco se sabe de los mecanismos por los cuales actúan. Adicionalmente se ha encontrado que bajo condiciones fisiológicas, varias especies que han sido catalogadas como buenos antioxidantes (p. e. fenoles) pueden oxidarse provocando la reducción del  $Cu(II)$ , favoreciendo así la producción del radical hidroxilo ( $HO^*$ ) a través de la reacción Fenton, es decir, se comportan como pro-oxidantes<sup>4-6</sup>.

Con el fin de evaluar la actividad antioxidante secundaria de tiofenoles, en el presente trabajo se llevó a cabo la determinación de la capacidad reparadora de doce diferentes tiofenoles mediante un análisis termodinámico y cinético simulando las condiciones biológicas a  $pH$  fisiológico y medio acuoso y lipídico. Se implementó el protocolo *QM – ORSA (Quantum Mechanics–based test for Overall free Radical Scavenging Activity)*<sup>7</sup> para realizar los cálculos termodinámicos y cinéticos. Los mecanismos estudiados fueron *transferencia de un electrón (SET, por sus siglas en inglés)*, *transferencia de un átomo de hidrógeno (HAT, por sus siglas en inglés)* y *transferencia acoplada de protón–electrón (PCET, por sus siglas en inglés)*. El comportamiento pro-oxidante se probó a través de la reducción de  $Cu(II)$  analizando el mecanismo *SET* ya que al tratarse de una reacción tipo óxido–reducción, es el único posible. Los análisis de cargas atómicas de Mulliken y de densidades de espín de Hirshfeld en cada uno de los puntos sobre la superficie de energía potencial, fueron la herramienta que permitió la dilucidación de dichos mecanismos.

# Capítulo I

## Introducción

---

El oxígeno es un elemento químico que se encuentra ampliamente distribuido sobre la tierra. Aproximadamente se encuentra en un 53.8% de la corteza terrestre y en su forma gaseosa ( $O_2$ ), contribuye con el 21% de la composición del aire<sup>8,9</sup>, por lo que sin duda, es imprescindible para la vida.

Este elemento presenta un doble efecto a nivel fisiológico. Por un lado, es esencial para el desarrollo de la vida de sistemas aerobios ya que se encuentra implicado en la obtención de energía mediante la producción de *ATP* acoplada a la oxidación de nutrimentos<sup>10</sup>. Por otro lado, es el responsable de una serie de efectos tóxicos inherentes a su estructura ya que al reducirse parcialmente, se da origen a una serie de especies conocidas como *especies reactivas de oxígeno (ROS*, por sus siglas en inglés), las cuales, pueden llegar a ser peligrosos productos del metabolismo celular si se producen en altas concentraciones.

El *estrés oxidativo (EO)* es un fenómeno que ocurre naturalmente en el cuerpo. En condiciones normales, los niveles fisiológicos intracelulares de *especies reactivas de oxígeno y radicales libres (R<sup>\*</sup>)*, se mantienen bajos debido a la participación de varios sistemas enzimáticos en la homeostasis redox *in vivo*<sup>11,12</sup>. A concentraciones que van de bajas a moderadas, estas especies son esenciales para un estado óptimo de salud ya que se encuentran implicadas en un serie de procesos biológicos como son respuestas mitogénicas<sup>13-16</sup>, maduración de estructuras celulares<sup>17</sup>, defensa<sup>18,19</sup> y señalización<sup>14,16,20</sup> celular, apoptosis de células defectuosas<sup>21-23</sup> y la actividad de la tirosina cinasa del receptor de insulina<sup>18</sup>.

A pesar de que el organismo puede generar enzimas (*antioxidantes, AH*) que ayudan a reparar los daños ocasionados por el *EO*, existe una gran cantidad de factores externos que generan una alta producción de *ROS* y *radicales libres*, de tal modo que esta vía puede ser insuficiente para proteger de daños permanentes<sup>12</sup>. Las *ROS* y los *R\** se generan de manera endógena como consecuencia de los procesos de inflamación, respuestas inmunes, isquemia, infecciones, estrés físico o mental y el envejecimiento<sup>24-34</sup>. Exógenamente, son consecuencia del humo (de cigarro o cualquier otro origen), la contaminación, el consumo de drogas o alcohol y la radiación<sup>35-48</sup>.

Existe gran cantidad de evidencias que asocian al *estrés oxidativo* con el desarrollo de múltiples enfermedades. Algunos ejemplos son afecciones pulmonares, renales y oculares<sup>49-54</sup>, artritis reumatoide<sup>55,56</sup>, preclamsia y restricción del crecimiento fetal<sup>57,58</sup>, cáncer<sup>23,59-63</sup>, desórdenes neurodegenerativos como Alzheimer, Parkinson, pérdida de memoria, esclerosis múltiple y depresión<sup>64-67</sup>, desórdenes cardiovasculares como isquemia, hipertensión, insuficiencia cardíaca congestiva, cardiomiopatía, hipertrofia cardíaca, aterosclerosis<sup>68-72</sup>, etc.

Pareciera lógico que la mejor manera de prevenir el *estrés oxidativo* y los problemas de salud asociados a éste sería evitar la exposición a los *radicales libres* y otros oxidantes, sin embargo, considerando la gran cantidad de fuentes de dichas especies a las que los sistemas vivos estamos expuestos, ésta no es una opción viable. Afortunadamente, existen vías alternativas para tratar de disminuir las concentraciones de estas especies en el organismo y reparar su daño, como son una alta ingesta de alimentos ricos en antioxidantes<sup>73</sup>. En la *Tabla 1* se encuentra una lista de algunos de los *AH* tanto endógenos como exógenos más conocidos.

Los polifenoles constituyen uno de los grupos más amplios de compuestos químicos presentes en la naturaleza. Algunos de los ejemplos más comunes de estos compuestos son los flavonoides como la quercetina<sup>74,75</sup> (presente en la cebolla roja, manzana, uvas y brócoli) o las antocianinas<sup>76-78</sup> (presentes en el betabel, col morada, uvas, frambuesas y arándanos), el ácido gálico<sup>79</sup> (presente en nueces,

uvas, cerezas, chicozapote, granada, miel y té verde), el resveratrol<sup>80</sup> y el piceatanol<sup>81</sup> (presentes en la uvas, moras, arándanos y vino tinto). Los carotenoides<sup>82</sup> como el  $\beta$ -caroteno<sup>83,84</sup>, el licopeno<sup>84,85</sup> o la luteína<sup>84</sup> pueden encontrarse en la zanahoria, yema de huevo, jitomate, sandía, toronja, guayaba, col de Bruselas, espinaca, kiwi, lechuga romana y aceite de oliva. La vitamina E<sup>86-88</sup> se encuentra en aceites de origen vegetal, soya, avellanas, nueces, almendras, yema de huevo, brócoli y espinacas. El ácido ascórbico o vitamina C<sup>89,90</sup> se encuentra presente en frutas y verduras como son kiwi, guayaba, grosella, fresa, naranja, limón, espinaca, pimiento rojo o perejil y, dada su importancia en el tratamiento de enfermedades como el escorbuto y su actividad antioxidante, puede encontrarse también como medicamento o suplemento alimenticio en diversas presentaciones.

**Tabla 1.** Antioxidantes clasificados con base a su origen<sup>73</sup>.

Endógenos		Exógenos	
Enzimáticos	No enzimáticos	Naturales	Sintéticos
Superóxido dismutasa ( <i>SOD</i> )	Melatonina	Polifenoles	Edaravona
Catalasa	Glutación	Carotenoides	Etoxiquina
Glutación peroxidasa ( <i>GPX</i> )	Coenzima Q10	Vitamina E	Hidroxitoluenol ( <i>BHA</i> )
	Ácidos lipóicos	Ácido ascórbico	Butilhidroxitolueno ( <i>BHT</i> )

En los últimos años, se le ha dado importancia al estudio de especies que contienen azufre como especies antioxidantes ya que al encontrarse incorporado en aminoácidos, proteínas, enzimas, vitaminas y otras biomoléculas<sup>91</sup>, éste es un elemento de gran importancia para el correcto desarrollo de diferentes funciones biológicas.

Dentro de las principales funciones que desempeña el azufre en el organismo se encuentran: mantener el aporte necesario de oxígeno al cerebro, la construcción de tejidos en el cuerpo humano ya que es un constituyente esencial de los aminoácidos cisteína y metionina, los cuales son necesarios para la síntesis de las proteínas en los seres vivos<sup>92,93</sup>, permite el correcto funcionamiento de la insulina,

la conversión de carbohidratos en energía<sup>94</sup>, la estructuración adecuada y la actividad biológica de las enzimas, el sistema de transporte de electrones, la conversión de la biotina (vitamina H), la síntesis de intermediarios metabólicos importantes como el glutatión, la desintoxicación<sup>93,95-97</sup>, etc. La deficiencia de azufre o los defectos genéticos en las enzimas que regulan las reservas de este elemento producen una variedad de patologías humanas que incluyen la homocistinuria y la homocisteinemia. Además, el desequilibrio en la regulación del azufre se ha asociado con múltiples trastornos y enfermedades como son el Alzheimer, VIH, aterosclerosis, cáncer y problemas vasculares<sup>92,94</sup>.

Se ha descrito que varios compuestos que contienen azufre presentan propiedades antioxidantes<sup>86</sup>. Algunos de los más conocidos son los aminoácidos metionina y cisteína, el glutatión<sup>98,99</sup>, la tiopronina<sup>100</sup> y el ácido lipóico, particularmente su forma reducida (ácido dihidrolipóico)<sup>101,102</sup>, etc., sin embargo, poco se ha estudiado la capacidad antioxidante de especies químicas que dentro de su estructura contengan un grupo funcional tiofenol<sup>1,103</sup>.

Estudios biológicos prueban que algunas de las especies tiofenólicas que se muestran en el presente trabajo, exhiben un conjunto de propiedades biológicas deseables. De acuerdo con Santangelo<sup>104</sup>, la capacidad que tienen este tipo de compuestos para regular la respuesta inflamatoria causada por el estrés oxidativo se le atribuye al grupo tiol presente. La especie (*I*) presenta actividad antiviral selectiva con índices terapéuticos contra el VIH en linfocitos *H9* infectados de forma aguda<sup>2</sup>. La especie (*J*) es una base de Schiff. Se ha demostrado que esta clase de compuestos tienen amplias aplicaciones como antibacterianos, antivirales, antifúngicos, en catálisis homogénea o heterogénea y magnetismo. También se ha demostrado que la actividad biológica de estas especies mejora si son administradas como complejos metálicos<sup>3</sup>. En particular, esta especie regula el estado redox y la expresión de quimiocinas inducidas por el hidroperóxido de terc-butilo (*t* – *BHP*)<sup>105</sup>. Se ha demostrado que la especie (*K*) es un inhibidor de estrona<sup>106</sup>.

En algunos casos, una especie *antioxidante* puede también actuar como pro-oxidante dependiendo de la concentración y el ambiente celular por lo que, el *estrés oxidativo* puede verse como un desbalance entre especies *AH* y especies pro-oxidantes en el cuerpo. En los últimos años, se ha demostrado que algunas especies químicas catalogadas como buenos antioxidantes también presentan actividad pro-oxidante, por ejemplo los polifenoles<sup>6</sup> como son el catecol<sup>4</sup>, el pirogalol<sup>4</sup>, el resveratrol<sup>5</sup> y, particularmente, los flavonoides<sup>107</sup> como la quercetina<sup>5</sup>.

En las últimas décadas, el análisis teórico y experimental de especies químicas que pueden fungir como *antioxidantes* se ha incrementado, sin embargo, los mecanismos químicos de reacción a través de los cuales las especies *AH* realizan sus funciones como reparadores de biomoléculas no están dilucidados en su totalidad. Lo anterior se debe principalmente a la gran complejidad asociada a la determinación de dichos mecanismos de manera experimental.

El desarrollo de la química computacional ha permitido encontrar solución a múltiples problemas químicos y ha encontrado una gran gama de aplicaciones que van desde la dilucidación detallada de mecanismos de reacción y la cinética de las reacciones hasta el diseño de nuevos fármacos y materiales. Dentro de las metodologías computacionales que se encuentran disponibles, la *DFT* ha destacado ya que permite obtener información sobre los sistemas químicos de manera eficiente y a un costo mucho menor que técnicas *ab initio* basadas en la función de onda,  $\Psi$ <sup>108</sup>.

Una de las aplicaciones de interés para el desarrollo del presente trabajo es el conocido protocolo *QM – ORSA*, el cual, proporciona una forma universal y cuantitativa de evaluar la actividad antioxidante de especies químicas además, puede ser aplicado en la obtención de información cinética precisa de otras reacciones químicas en solución. Este protocolo se ha validado por comparación con valores experimentales y se ha demostrado que es capaz de reproducir los datos cinéticos con un error inferior a  $1 \text{ kcal/mol}$ <sup>7</sup>.

# Capítulo II

## Marco Teórico

---

Desde finales de los años setenta se ha venido desarrollando una rama de la química enfocado en el diseño de sistemas químicos y la predicción de propiedades físicas y químicas de interés a través del empleo de computadoras conocida como Química Computacional. Esta disciplina se desprende de la Química Teórica o Cuántica, la cual, se encarga en el planteamiento matemático de los sistemas químicos basándose en leyes fundamentales de la física, los cuales, dados su complejidad resultan imposibles de resolver sin la asistencia de computadoras<sup>109</sup>.

Hoy en día gracias a los grandes avances que ha tenido la computación así como la creación y el constante mejoramiento de múltiples softwares que permiten la resolución de sistemas químicos, la Química Computacional ha logrado asentarse como una de las ramas más importantes de la química ya que casi cualquier problema químico puede ser descrito con un alto nivel de confiabilidad a tal punto que las predicciones computacionales de propiedades químicas han llegado a competir con las determinaciones experimentales<sup>109</sup>.

### 2.1 Mecanismos de reacción

Los mecanismos químicos de reacción a través de los cuales las especies químicas ejercen sus efectos como *antioxidantes* son una respuesta inherente de los sistemas biológicos para tratar de prevenir, retardar o reparar el daño causado por los *radicales libres*. Considerando que en el medio biológico existen una gran cantidad de factores que pueden modificar la reactividad de las especies

involucradas, es que el estudio de los mecanismos de reacción puede tornarse sumamente complejo.

En condiciones fisiológicas, una gran cantidad de especies que pueden estar involucradas en reacciones simultáneas o de competencia. La importancia relativa de estos equilibrios dependerá de la concentración y la reactividad intrínseca de cada especie. Igualmente la polaridad y el *pH* del medio pueden modificar drásticamente el mecanismo de reacción<sup>73</sup>.

Existen al menos dos principales vías de reacción a través de los cuales los antioxidantes pueden actuar. Estos mecanismos hacen referencia a las diferentes capacidades que tienen los antioxidantes de actuar como estabilizadores o apagadores de diversas especies reactivas: *a*) mecanismos concertados, los cuales ocurren en una sola etapa de reacción y *b*) mecanismos secuenciales, que se dan en múltiples etapas. En la *Tabla 2* se puede encontrar un compendio de los mecanismos más importantes involucrados en la actividad antioxidante así como algunas características importantes que deben presentarse para favorecer a cada uno de ellos.

**Tabla 2.** *Mecanismos de reacción y sus principales características*<sup>110</sup>.

<b>Elementales</b>	
<b>Mecanismos</b>	<b>Características</b>
<i>RAF</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– AH con múltiples enlaces.</li> <li>– Gran exposición del sitio de reacción en el AH y tamaño pequeño de R*.</li> <li>– R* debe ser electrofílico.</li> </ul>
<i>SET</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– AH buen electrodonador y R* buen electroceptor.</li> <li>– Solvatación de especies iónicas.</li> </ul>
<b>Concertados</b>	
<b>Mecanismos</b>	<b>Características</b>
<i>HAT</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Polaridad del medio: favorecido en solventes no polares.</li> </ul>
<i>PCET</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Electronegatividad del donador del protón y del aceptor: favorecido a mayores valores de electronegatividad.</li> </ul>

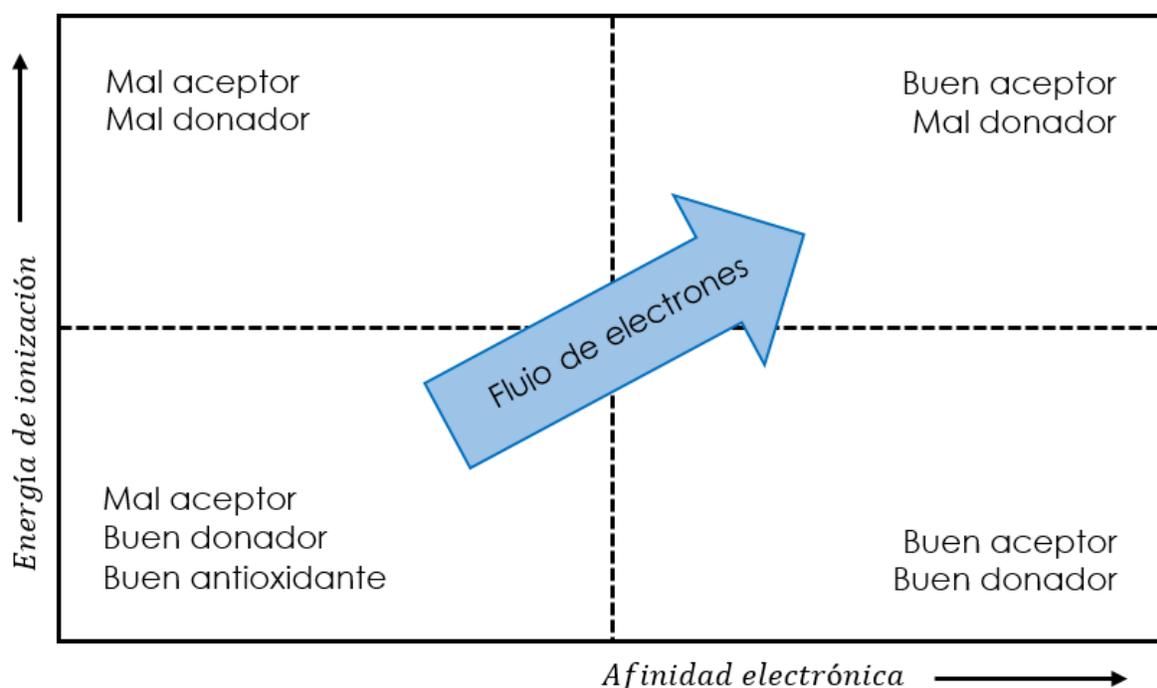
<b>Secuenciales</b>	
<b>Mecanismos</b>	<b>Características</b>
<b><i>SPLET</i></b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Medio: favorecido en solventes próticos polares.</li> <li>– <math>pK_a</math> del <i>AH</i>: a menor valor se favorece la primera etapa.</li> <li>– <math>pH</math>: si es mayor que el <math>pK_a</math> del <i>AH</i> se favorece la primer etapa.</li> <li>– <i>AH</i> desprotonado (<math>A^-</math>) es un buen electrodonador.</li> </ul>
<b><i>SPGET</i></b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Medio: favorecido en solventes próticos polares.</li> <li>– <math>R^*</math> al protonarse (<math>R^{*+}</math>) debe ser un electroaceptor.</li> </ul>
<b><i>EPST</i></b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Favorecido cuando <i>AH</i> y <math>R^*</math> tienen potenciales <i>REDOX</i> similares.</li> </ul>
<b><i>PEST</i></b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Medio: favorecido en solventes no polares.</li> <li>– Acidez: favorecido cuando <i>AH</i> y <math>R^*</math> tienen <math>pK_a</math>'s similares.</li> </ul>
<b><i>SPLHAT</i></b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Medio: solventes próticos polares para que ocurra la primera etapa.</li> <li>– <math>pK_a</math> del <i>AH</i>: a menor valor se favorece la primera etapa.</li> <li>– <math>pH</math>: favorecido cuando es mayor que el <math>pK_a</math> del <i>AH</i>.</li> <li>– <i>AH</i> desprotonado (<math>A^-</math>) debe ser un buen donador de átomo de hidrógeno.</li> </ul>

*Antioxidante (AH), radical libre (R\*), formación de aducto radical (RAF, por sus siglas en inglés), transferencia de un electrón (SET, por sus siglas en inglés), transferencia de un átomo de hidrógeno (HAT, por sus siglas en inglés), transferencia acoplada protón–electrón (PCET, por sus siglas en inglés), transferencia secuencial de pérdida de protón–electrón (SPLET, por sus siglas en inglés), transferencia secuencial de ganancia de protón–electrón (SPGET, por sus siglas en inglés), transferencia secuencial de electrón–protón (EPST, por sus siglas en inglés), transferencia secuencial de protón–electrón (PEST, por sus siglas en inglés) y transferencia secuencial de pérdida de protón–átomo de hidrógeno (SPLHAT, por sus siglas en inglés). La Tabla 2 fue adaptada de la Referencia 110.*

El mecanismo de *formación de aducto radical (RAF, por sus siglas en inglés)* es de tipo elemental. Depende principalmente de la estructura del *AH* y el tamaño del  $R^*$  con el fin de evitar efectos estéricos importantes. En este mecanismo se genera una especie (aducto entre el *AH* y el  $R^*$ ) radicalaria más estable y, por lo tanto, de menor reactividad. Este mecanismo puede representarse a través de la *Reacción 1*:

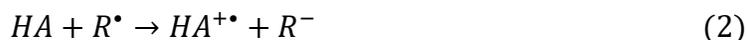


El mecanismo *SET* es de tipo elemental y depende principalmente de la capacidad electroaceptora y electrodonadora del  $R^\bullet$  y del  $AH$ , respectivamente, por lo que una condición necesaria para que este proceso sea viable es que el *energía de ionización (EI)* del electrodonador sea menor que la *afinidad electrónica (AE)* del electroaceptor<sup>73,111</sup>. Con base en esta condición, se ha propuesto un mapa conocido como *mapa completo de donador–aceptor de electrones (FEDAM)*, por sus siglas en inglés), el cual, permite un análisis rápido y cualitativo del flujo de electrones en reacciones de transferencia electrónica (*Figura 1*)<sup>73,111</sup>. De acuerdo a este mapa, las especies que se ubican en el cuadrante inferior izquierdo se consideran como malos aceptores de electrones pero buenos donadores, mientras que lo contrario ocurre con las que se encuentran en la parte superior derecha, es decir, son buenos aceptores de electrones pero malos donadores. Por lo tanto, en función de su ubicación en el *FEDAM* es posible predecir qué especies serían buenos antioxidantes vía *SET*<sup>73</sup>.



**Figura 1.** Mapa completo de donador – aceptor de electrones (*FEDAM*, por sus siglas en inglés)<sup>73,111</sup>.

La manera más común en que se presenta este mecanismo está descrita por la *Reacción 2*:



Sin embargo, en algunos casos poco comunes, el proceso contrario puede ocurrir (*Reacción 3*):



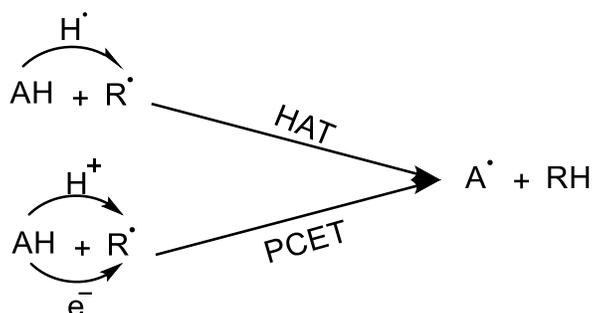
En este punto es importante recordar que la especie *HA* en su forma neutra (protonada) tiene una menor capacidad para donar electrones que la especie aniónica ( $A^{-}$ ), por lo que por lo que *SET* como una vía de reacción, generalmente, no ocurre de manera aislada. Generalmente viene acompañado de otros procesos como son la *transferencia de protón* (*PT*, por sus siglas en inglés) anterior y/o posterior a la transferencia del electrón.

### 2.1.1 Mecanismos de Transferencia Formal de Hidrógeno

Los mecanismos de *transferencia formal de hidrógeno* (*FHT*, por sus siglas en inglés) son aquellos en los cuales se transfiere un átomo de hidrógeno ( $H^{\bullet}$ ) entre dos especies químicas, en este caso, entre el *AH* y el  $R^{\bullet}$ . Un átomo de hidrógeno se encuentra compuesto por dos partículas, un *protón* ( $H^{+}$ ) y un *electrón* ( $e^{-}$ ), por lo que pueden existir varias vías de transferencia de tipo concertado o secuencial. En la sección anterior se definió que los mecanismos *FHT* de tipo concertado son *HAT* y *PCET*, mientras que los de tipo secuencial son *PEST* y *EPST*<sup>112,113</sup>.

A través de los mecanismos *HAT* y *PCET* se producen los mismos productos (Ver *Esquema 1*), por lo que identificar cuál de ellos está involucrado en cada reacción en particular no es una tarea sencilla. La diferencia entre estos dos mecanismos es la manera en la que se mueven las partículas: en el mecanismo *HAT* el  $H^{+}$  y el  $e^{-}$  se mueven como una sola especie, es decir, como un átomo de hidrógeno ( $H^{\bullet}$ ) mientras que en el mecanismo *PCET* se mueven como partículas

independientes (Ver *Figura 3*)<sup>73,114</sup>. Otra diferencia importante es que en el mecanismo *HAT* el  $H^+$  y el  $e^-$  provienen de un mismo sitio dentro de la molécula donadora (*AH*) y llegan a un mismo sitio en la molécula aceptora ( $R^\bullet$ ) mientras que en *PCET* provienen de diferentes orbitales<sup>73,110</sup>.



**Esquema 1.** Mecanismos *FHT* de tipo concertado: transferencia de átomo de hidrógeno (*HAT*, por sus siglas en inglés) y transferencia acoplada de protón – electrón (*PCET*, por sus siglas en inglés)<sup>114</sup>.

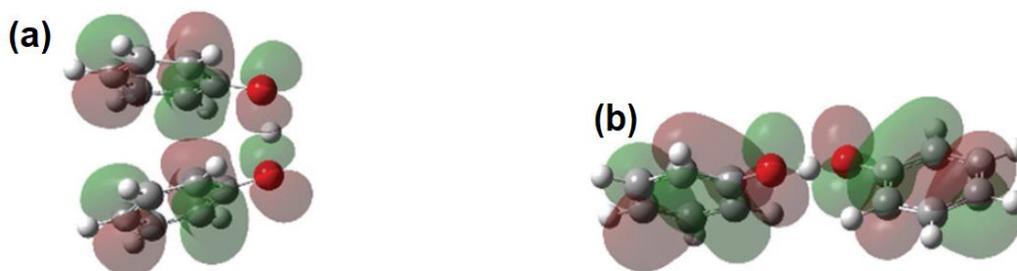
El mecanismo *HAT* corresponde a la transferencia de un átomo de hidrógeno en una sola etapa de reacción del *AH* al  $R^\bullet$ . Puede ser representado como la *Reacción 4* expresa:



Este mecanismo está influenciado por la polaridad del medio; se ve más favorecido en solventes no polares o medio lipídico, donde el proceso de desprotonación es poco probable ya que el medio no provee la solvatación necesaria para estabilizar especies iónicas. Sin embargo, si el proceso ocurre en medio acuoso, el *pH* es el factor determinante: si el *pH* es menor que el  $pK_a$ , el *AH* permanece en su forma protonada por lo que el proceso se favorece, por el contrario, si el *pH* es mayor que el  $pK_a$ , la desprotonación ocurrirá y la importancia de este proceso disminuirá<sup>73,110</sup>.

Existen dos herramientas computacionales que permiten la diferenciación entre los mecanismos *HAT* y *PCET*. La primera consiste en el análisis de las

superficies de densidad de los *orbitales moleculares individualmente ocupados* (*SOMO*, por sus siglas en inglés) en los *estados de transición* (*TS*, por sus siglas en inglés). Para las reacciones que proceden vía el mecanismo *HAT* se espera que la densidad se encuentre significativamente localizada sobre los orbitales orientados a lo largo del canal de transferencia *donador – H – aceptor* (*A – H – R\**). Por otro lado, en el mecanismo *PCET* generalmente en los *TS* pueden estar implicados orbitales *p* ortogonales al canal de transición, por lo que el  $H^+$  es transferido entre orbitales  $\sigma$  mientras que el  $e^-$  es transferido entre orbitales  $\pi$ <sup>73,114,115</sup>. En la *Figura 2* se puede ver la distribución de la densidad de los orbitales *SOMO* en los *TS* del sistema *PhO\*/PhOH* que permiten diferenciar gráficamente entre ambos mecanismos<sup>114</sup>.

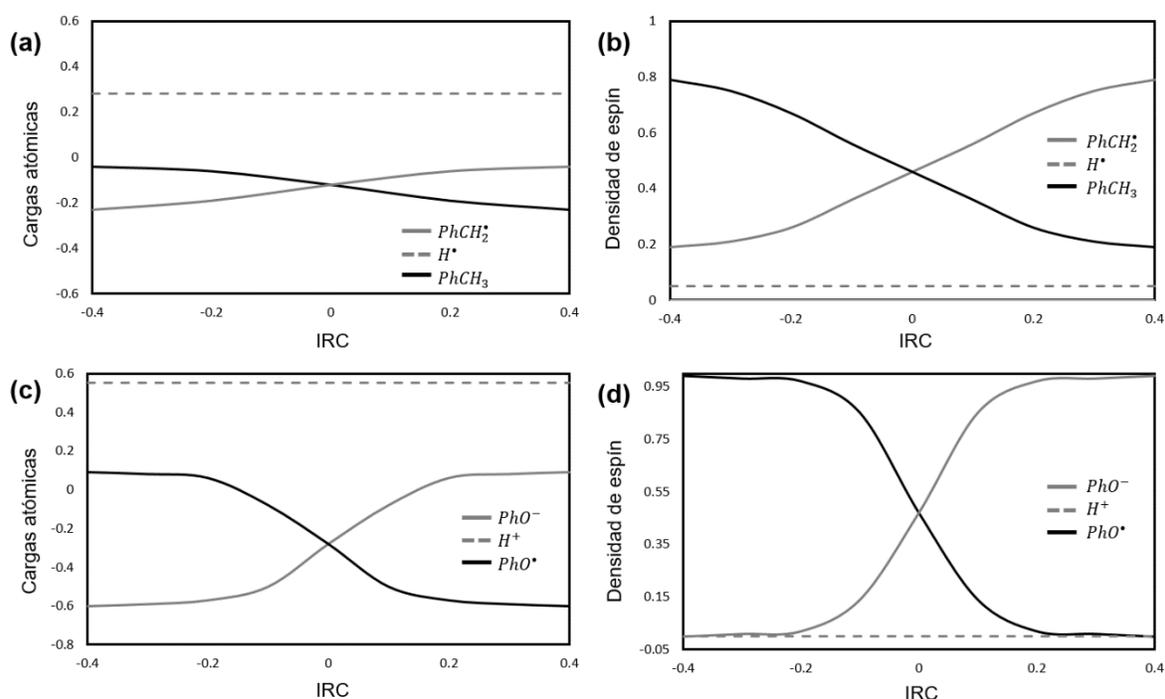


**Figura 2.** Orbitales *SOMO* de los *TS* para el sistema modelo *PhO\* / PhOH*: (a) con interacciones de apilamiento  $\pi$  (mecanismo *HAT*) y (b) sin apilamiento (mecanismo *PCET*)<sup>114</sup>.

Por otro lado, el análisis de poblaciones de carga y densidad de espín sobre el donador (*AH*), el aceptor (*R\**) y el núcleo en transferencia (*H*) en función de la coordenada intrínseca de reacción (*IRC*, por sus siglas en inglés), permite una diferenciación más confiable entre los mecanismos *HAT* y *PCET*<sup>73,113-115</sup>.

En la *Figura 3* se presentan los gráficos de evolución de cargas y de densidades de espín de Hirshfeld con respecto al *IRC* de los sistemas *PhCH<sub>2</sub>\*/PhCH<sub>3</sub>* y *PhO\*/PhOH*, los cuáles, son los modelos que se emplean para representar el comportamiento de los mecanismos *HAT* y *PCET*, respectivamente<sup>90,114,115</sup>. Las cargas se calcularon mediante un *análisis de poblaciones naturales* (*NPA*, por sus

siglas en inglés). Como se puede observar, en *HAT* hay una menor redistribución de carga y espín para el donador (*AH*) y el aceptor (*R\**) en comparación con *PCET*<sup>115</sup>. Por otro lado, para el núcleo en transferencia (*H*) se espera que la densidad de espín en *HAT* (~5%) sea mayor en comparación con *PCET*, donde se espera que sea despreciable (~0%) y para la carga se espera lo contrario, es decir, una mayor carga en *PCET* que en *HAT*<sup>114</sup>. El análisis de la evolución de la densidad de espín en función de la *IRC* es la principal herramienta utilizada para la dilucidación de mecanismos en el presente trabajo.



**Figura 3.** Evolución de cargas NPA y densidad de Hirshfeld con respecto a la IRC para los mecanismos *HAT* y *PCET*, respectivamente: (a) carga y (b) espín para el sistema modelo  $PhCH_2^\bullet / PhCH_3$ , (c) cargas y (d) espín para el sistema modelo  $PhO^\bullet / PhOH$ .

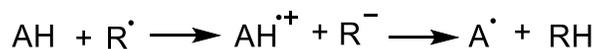
Por otro lado, los mecanismos de tipo *FHT* secuenciales son *PEST* y *EPST*, sin embargo, existen otros mecanismos de tipo secuencial importantes en el estudio de la capacidad antioxidante como son el mecanismo *SPLET* y el *SPLHAT*.

El mecanismo de *transferencia secuencial de protón–electrón* (*PEST*, por sus siglas en inglés) ocurre en tres etapas de reacción en las cuales primero se genera un aducto entre el *antioxidante* y el radical dentro del cual se transfiere un protón (*PT*) y posteriormente ocurre una transferencia de electrón (*SET*) para que finalmente el aducto se disocie (*Esquema 2*)<sup>90</sup>.



**Esquema 2.** *Mecanismo de transferencia secuencial de protón–electrón (PEST, por sus siglas en inglés).*

El mecanismo de *transferencia secuencial de electrón–protón* (*EPST*, por sus siglas en inglés) ocurre en dos etapas de reacción dentro de las cuales primero se transfiere un electrón (*SET*) y posteriormente ocurre una *transferencia de protón* (*PT*) (*Esquema 3*)<sup>73,133</sup>.

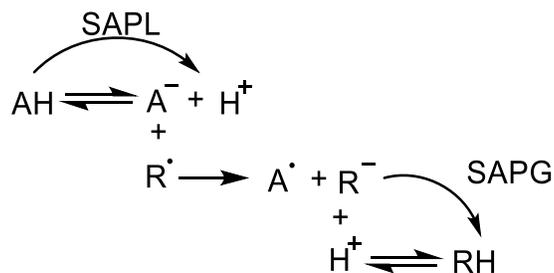


**Esquema 3.** *Mecanismo de transferencia secuencial de electrón–protón (EPST, por sus siglas en inglés).*

El mecanismo de *transferencia secuencial de pérdida de protón–electrón* (*SPLET*, por sus siglas en inglés)<sup>116-119</sup> ocurre en tres etapas de reacción dentro de las cuales primero hay una *pérdida de protón asistida por el solvente* (*SAPL*, por sus siglas en inglés), posteriormente ocurre una *transferencia de electrón* (*SET*) y finalmente ocurre una *ganancia de protón asistida por el solvente* (*SAPG*, por sus siglas en inglés) (*Esquema 4*).

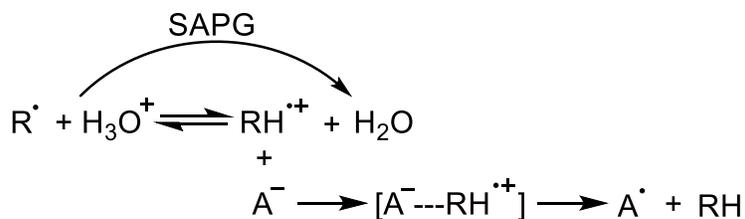
El mecanismo de *transferencia secuencial de ganancia de protón–electrón* (*SPGET*, por sus siglas en inglés)<sup>120</sup> ocurre en tres etapas de reacción en la cuales primero ocurre un proceso *SAPG* entre el radical y el solvente, lo que da origen a una especie radicalaria catiónica, la cual, en una segunda etapa de reacción genera

un aducto con el antioxidante (desprotonado por efecto del solvente, *SAPL*) y finalmente en una tercera etapa de reacción dentro de dicho aducto ocurre una transferencia de electrón (*SET*) (*Esquema 5*).



**Esquema 4.** Mecanismo de transferencia secuencial de pérdida de protón – electrón (*SPLET*, por sus siglas en inglés). Pérdida de protón asistida por solvente (*SAPL*, por sus siglas en inglés) y ganancia de protón asistida por solvente (*SAPG*, por sus siglas en inglés).

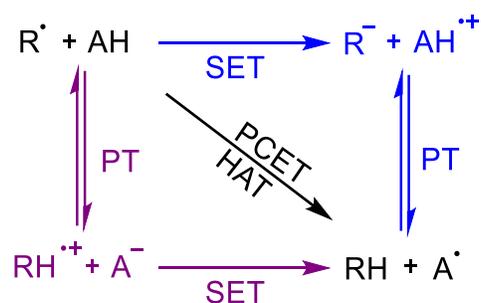
Considerando la variedad de vías de reacción que se conocen, a través de las cuales, las especies químicas pueden ejercer su actividad antioxidante y que el medio juega un papel crucial para que varios de estos procesos puedan ocurrir, la determinación de los mecanismos de reacción es una tarea en verdad compleja, la cual, sin la ayuda de cálculos computacionales sería casi imposible.



**Esquema 5.** Mecanismo de transferencia secuencial de ganancia de protón – electrón (*SPGET*, por sus siglas en inglés).

El presente trabajo se centra en el análisis de tres diferentes mecanismos de reacción de tipo concertado: *SET*, *HAT* y *PCET*. En los casos analizados se encontró que para el mecanismo *PCET*, la inversión de la densidad de espín ocurre después

de alcanzar la geometría del  $TS$ , es decir, en la región de productos. Este fenómeno se relaciona con la asincronía que existe entre la transferencia del  $H^+$  y el  $e^-$ . Cuando la inversión ocurre en la región de productos (después del  $TS$ ), significa que el  $e^-$  comienza a transferirse después de que el  $H^+$  lo hace, por lo que el mecanismo se desvía en la dirección  $PEST$ . Por el contrario, si la inversión de espín ocurre en la región de reactivos (antes del  $TS$ ), significa que el  $e^-$  comienza a transferirse antes que el  $H^+$ , por lo que el mecanismo se desvía en la dirección  $EPST$ . En el *Esquema 6* se puede apreciar de manera gráfica el análisis de mecanismos de reacción que se realizó.



**Esquema 6.** *Mecanismos bajo análisis. Antioxidante (AH), radical libre ( $R^\bullet$ ), transferencia de un electrón (SET, por sus siglas en inglés), transferencia de un átomo de hidrógeno (HAT, por sus siglas en inglés), transferencia acoplada de protón – electrón (PCET, por sus siglas en inglés), transferencia de protón (PT, por sus siglas en inglés). Desviación a la derecha (azul) transferencia secuencial de electrón – protón (EPST, por sus siglas en inglés) y desviación a la izquierda (morado) transferencia secuencial de protón – electrón (PEST, por sus siglas en inglés).*

## 2.2 Métodos de solvatación

Si bien la fase gaseosa puede llegar a ser muy socorrida por su simplicidad –de baja a moderada presión, las moléculas pueden tratarse como especies aisladas que no interactúan lo que facilita enormemente el modelado teórico– resulta insuficiente para representar la realidad química.

Aunque de manera cualitativa se pueden obtener resultados partiendo de cálculos precisos en fase gaseosa para luego hacer amplias generalizaciones –siempre que se pueda confiar razonablemente en que los efectos de la fase condensada son pequeños para las propiedades particulares que se estudian– acerca de cómo se puede esperar que sea el comportamiento en fase condensada. Sin embargo, el desarrollo significativo de la teoría combinado con el crecimiento en el poder computacional requerido para implementarlos, ha resultado en la disponibilidad de modelos diseñados para describir con mayor precisión la naturaleza física de los sistemas en fase condensada<sup>121</sup>.

La cantidad fundamental más importante que describe la interacción de un soluto con un disolvente circundante es la energía libre de solvatación,  $\Delta G_{solvatación}$ . Esta cantidad se refiere al cambio en la energía libre para una molécula de soluto que sale de la fase gaseosa y entra en una fase condensada<sup>121</sup>. Esta energía puede obtenerse como muestra la *Ecuación 1*:

$$\Delta G_{solvatación} = \Delta G_{cavidad} + \Delta G_{dispersión/repulsión} + \Delta G_{electrostática} \quad (1)$$

donde  $\Delta G_{cavidad}$  es la energía libre asociada a la creación de la cavidad en el medio,  $\Delta G_{dispersión/repulsión}$  es la energía libre debida a las interacciones dipolo–dipolo entre el soluto y el solvente y  $\Delta G_{electrostática}$  es la energía libre asociada a la polarización del medio inducida por la distribución de carga del soluto<sup>122</sup>.

Los métodos para evaluar el efecto del solvente se pueden dividir en dos tipos: explícitos o implícitos. Los modelos explícitos describen las moléculas individuales del solvente, lo cual, brinda una mejor descripción de interacciones específicas, sin embargo, esto puede convertirse en un trabajo difícil considerando las múltiples configuraciones que pueden existir y que no hay manera de predecir el número exacto de moléculas de disolvente que deben usarse, por lo tanto, estos modelos comúnmente resultan considerablemente costosos. Por otro lado, los modelos implícitos tratan al solvente como un medio polarizable uniforme con una constante dieléctrica,  $\epsilon$ , y con el soluto  $M$  colocado en una cavidad de forma adecuada en el medio<sup>122</sup>. Estos modelos resuelven el problema del tamaño del

sistema, por lo que son computacionalmente accesibles pero a veces el costo a pagar es la pérdida de interacciones importantes. Por fortuna, algunos modelos implícitos permiten la inclusión de moléculas explícitas de disolvente para evitar la pérdida de información.

Los cálculos realizados para el desarrollo del presente trabajo, se llevaron a cabo empleando el modelo de solvatación continuo basado en la densidad (*SMD*, por sus siglas en inglés), el cual, se basa en la densidad de carga mecano–cuántica de una molécula de soluto interactuando con un solvente descrito como un continuo polarizable. Este modelo es considerado como universal ya que puede ser usado con solutos neutros o cargados en cualquier solvente del que se conozcan su constante dieléctrica, índice de refracción, tensión superficial y parámetros de acidez–basicidad. *SMD* ha sido parametrizado para solutos que contengan *H*, *C*, *N*, *O*, *F*, *Si*, *P*, *S*, *Cl* y *Br*<sup>123</sup>.

### 2.3 Teoría del estado de transición

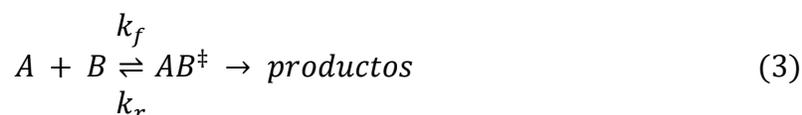
La *teoría del estado de transición* (*TST*, por sus siglas en inglés) o del complejo activado, es una teoría relativamente sencilla (en comparación a otras teorías p.e. la Teoría de la colisión de esferas duras) para calcular las constantes de velocidad teóricas. Fue desarrollada en 1932 por H. Pelzer y E. Wigner<sup>124</sup>, sin embargo, fue hasta 1935 que esta teoría fue aplicada casi simultáneamente por H. Eyring<sup>125</sup> y por M. G. Evans y M. Polanyi<sup>126</sup>, y es a quienes se les da el crédito por dicha teoría.

La *TST* se puede considerar como una extensión lógica del argumento de van't Hoff con respecto a la energía de activación<sup>127</sup>. La *Ecuación* (2) es conocida como la Ecuación de van't Hoff<sup>128</sup> o la Ecuación de Arrhenius<sup>129</sup>:

$$k = Ae^{-E_a/RT} \quad (2)$$

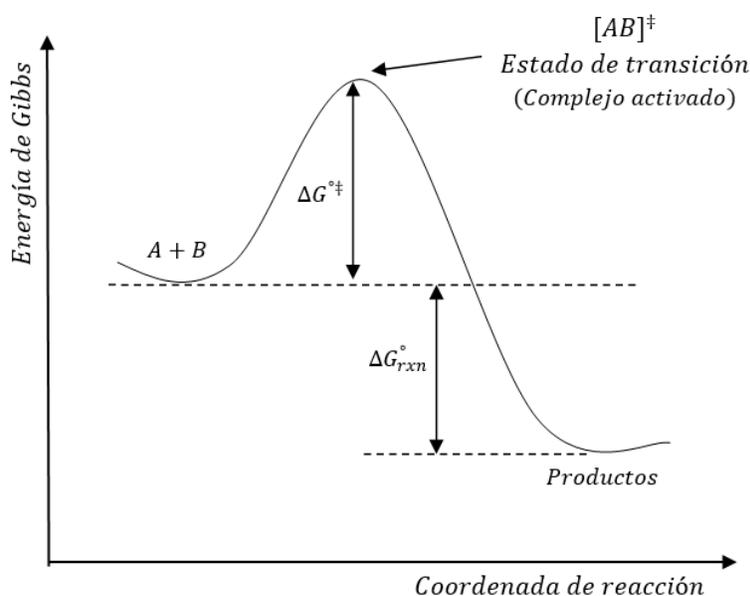
donde  $R$  es la constante de los gases y  $E_a$  es la energía de activación. Van't Hoff consideraba que existe una relación entre la constante de equilibrio,  $K_c$ , y la constante de velocidad de una reacción,  $k$ .

En esta teoría se asume que  $A$  y  $B$  colisionan y empiezan a reaccionar formando una especie conocida como *estado de transición* ( $TS$ , por sus siglas en inglés), el cual, corresponde al aducto  $A - B$  en el punto de mayor energía sobre la coordenada de reacción de reactivos a productos. Este  $TS$  puede regresar y formar los reactivos nuevamente, o bien, seguir y formar los productos (*Figura 4*). Así, la reacción puede representarse como indica la *Ecuación* (3):



donde  $AB^\ddagger$  es el  $TS$ . Asumiendo que este  $TS$  está en equilibrio con los reactivos, se puede definir la constante de equilibrio  $K^\ddagger$  como indica la *Ecuación* (4):

$$K^\ddagger = \frac{k_f}{k_r} = \frac{[AB^\ddagger]}{[A][B]} \quad (4)$$



**Figura 4.** Representación gráfica de la TST. Diagrama de energía potencial como función de la coordenada de reacción.

$K^\ddagger$  está relacionada con el cambio en la energía libre estándar que va de reactivos al estado de transición,  $\Delta G^{\circ\ddagger}$ , por la relación termodinámica expresada por la *Ecuación (5)*:

$$K^\ddagger = e^{-\Delta G^{\circ\ddagger}/RT} \quad (5)$$

Recordando que los cambios de energía de Gibbs se pueden expresar en términos de cambios de entropía,  $S$ , y entalpía,  $H$ , de acuerdo a la relación de Gibbs descrita por la *Ecuación (6)*:

$$\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T\Delta S^\circ \quad (6)$$

la *Ecuación (5)* puede reescribirse como se describe en la *Ecuación (7)*:

$$K^\ddagger = \left( e^{-\Delta H^{\circ\ddagger}/RT} \right) \left( e^{\Delta S^{\circ\ddagger}/R} \right) \quad (7)$$

La velocidad de la reacción se determina por la velocidad con la cual  $AB^\ddagger$  forma los productos y puede expresarse como en la *Ecuación (8)*:

$$velocidad = v[AB^\ddagger] \quad (8)$$

siendo  $v$  la frecuencia con la que  $AB^\ddagger$  se divide en productos. Sustituyendo  $[AB^\ddagger]$  de la *Ecuación (4)*, se obtiene la *Ecuación (9)*:

$$velocidad = v K^\ddagger[A][B] \quad (9)$$

y  $K^\ddagger$  de la *Ecuación (7)*, se obtiene la *Ecuación (10)*:

$$velocidad = v \left( e^{-\Delta H^{\circ\ddagger}/RT} \right) \left( e^{\Delta S^{\circ\ddagger}/R} \right) [A][B] \quad (10)$$

Si se compara la *Ecuación (10)* con la ecuación de rapidez expresada por la *Ecuación (11)*:

$$velocidad = k[A]^\alpha[B]^\beta \quad (11)$$

se llega a la *Ecuación* (12):

$$k = \nu \left( e^{-\Delta H^{\ddagger}/RT} \right) \left( e^{\Delta S^{\ddagger}/R} \right) \quad (12)$$

La frecuencia  $\nu$  es comúnmente aproximada como indica la *Ecuación* (13):

$$\nu \approx \frac{k_B T}{h} \quad (13)$$

donde  $k_B$  y  $h$  son las constantes de Boltzmann y Planck, respectivamente. La *Ecuación* (12) puede reescribirse como muestra la *Ecuación* (14), la cual, es conocida comúnmente como la ecuación de Eyring<sup>127</sup>:

$$k = \frac{k_B T}{h} \left( e^{-\Delta H^{\ddagger}/RT} \right) \left( e^{\Delta S^{\ddagger}/R} \right) = \frac{k_B T}{h} e^{-\Delta G^{\ddagger}/RT} \quad (14)$$

### 2.3.1 Correcciones a la *TST*

Considerando que la *TST* fue derivada en el marco de la mecánica clásica, ésta teoría no incluye efectos cuánticos como son el efecto túnel. Tampoco considera otros efectos importantes como son la degeneración de caminos de reacción, la caja de solvente, el cambio de estado estándar 1 atm a 1 M o el control por difusión<sup>7</sup>. Por lo anterior, con el fin de obtener valores de  $k$  mucho más realistas, es necesario introducir algunos términos adicionales a la *Ecuación* (14) y hacer correcciones directas a la constante de velocidad –o a la energía libre de Gibbs de activación,  $\Delta G^{\ddagger}$  – para compensar las deficiencias de la *TST*.

La primer mejora a la *TST* es considerar la degeneración de caminos de reacción,  $\sigma$ , la cual, es una consecuencia de la simetría rotacional. Este factor toma en cuenta el número de rutas de reacción equivalentes, es decir, considera que un proceso puede ocurrir de maneras diferentes pero equivalentes. Por lo general, este término se obtiene al etiquetar todos los átomos idénticos y contar el número de disposiciones diferentes pero equivalentes que se pueden tener girando (pero no reflejando) la molécula<sup>7</sup>.

La siguiente mejora es incluir las correcciones por efecto de túnel cuántico. En general, esta corrección no es importante para reacciones que no involucran partículas ligeras pero, considerando que los mecanismos de reacción relevantes en la actividad antioxidante —especialmente los estudiados en el presente trabajo— involucran la transferencia de átomos de hidrógeno, electrones y/o protones, introducir esta corrección es de suma importancia. El coeficiente de transmisión,  $\kappa$ , permite considerar el fenómeno mecano—cuántico de tunelaje<sup>7</sup>, el cual, se presenta cuando ciertas especies químicas no tienen la energía suficiente para pasar sobre la barrera impuesta por el *TS*, por lo tanto, tunelean a través de la barrera y aparecen en la región de productos<sup>122</sup>.

Aunque existen varias aproximaciones para calcular las correcciones mecano—cuánticas por el efecto túnel, en el presente trabajo se emplea el método de Eckart<sup>130</sup> ya que es un enfoque simple para calcular  $\kappa$ . Esta aproximación utiliza la función de Eckart para generar la curva de energía potencial del estado basal. Una de las principales ventajas de este método es que solo requiere información sobre los puntos estacionarios (reactivos, *TS* y productos), que es la misma información necesaria para los cálculos de *TST*. Aunque los valores de  $\kappa$  obtenidos por este método generalmente están sobreestimados a temperaturas bajas, a temperatura ambiente o corporal son similares a los obtenidos con aproximaciones más precisas como la de curvatura pequeña (*SCT*, por sus siglas en inglés). Además, este método se ha empleado exitosamente en combinación con la metodología *QM – ORSA* cuando las constantes de velocidad se calculan utilizando la *TST* convencional<sup>7</sup>.

Incluyendo las correcciones por efecto túnel y por degeneración de caminos de reacción, la constante de velocidad se calcula como indica la *Ecuación* (15):

$$k = \sigma\kappa \frac{k_B T}{h} e^{-\Delta G^\ddagger/RT} \quad (15)$$

Por otro lado, para el desarrollo de estudios teóricos es necesario recurrir al uso de códigos computacionales, sin embargo, los que se encuentran disponibles

–como el paquete de programas *Gaussian*<sup>131</sup>– proporcionan resultados en fase gas, es decir, se encuentran en el estado estándar 1 atm. Considerando que las constantes de velocidad de reacciones bimoleculares –las reacciones planteadas en este estudio son de este tipo– tienen unidades de  $M^{-1}s^{-1}$ , es necesario hacer un cambio a estado estándar 1 M<sup>7</sup>. Para hacer esta conversión, hay que recordar las constantes de equilibrio en unidades de concentración,  $K_c$ , y en unidades de presión,  $K_p$ , así como la relación que guardan entre sí:

$$K_p = K_c(V_M)^{\Delta n} \quad (16)$$

donde  $\Delta n$  representa el cambio total en el número de moles a través de la reacción ( $\Delta n = -1$  para reacciones bimoleculares donde se forma un TS) y  $V_M$  es el volumen molar. Si se expresa a las constantes de equilibrio  $K_p$  y  $K_c$  en función de las exponenciales como en la Ecuación (5), se obtiene:

$$e^{-\Delta G^{1atm}/RT} = \left( e^{-\Delta G^{1M}/RT} \right) (V_M)^{-1} \quad (17)$$

donde  $R$  es la constante de los gases y  $T$  es la temperatura (298.15 K). Aplicando logaritmo natural y despejando  $\Delta G^{1M}$ , se obtiene finalmente:

$$\Delta G^{1M} = \Delta G^{1atm} - RT \ln(V_M) \quad (18)$$

De la Ecuación (18) se puede ver que la conversión de estado estándar 1 atm a 1 M disminuye la energía libre de Gibbs en 1.89 kcal/mol para reacciones biomoleculares a 298.15 K que conectan reactivos con productos a través de un TS, por lo tanto, una constante de velocidad calculada con los valores obtenidos directamente de los cálculos computacionales, se encuentra subestimada 24.3 veces con respecto al estado estándar 1 M<sup>7</sup>.

Siguiendo la idea del paso de fase gas a solución, es de esperarse que existan otros efectos a considerar. Uno de éstos es el efecto de la caja de solvente. Recordando que en fase gas las moléculas no se encuentran restringidas por el volumen, cuando éstas pasan a solución, existe una disminución de entropía

asociada a la pérdida de grados de libertad<sup>7,113</sup>. Una de las maneras para tomar en cuenta este efecto es adicionar la corrección de volumen libre a fase líquida de Benson<sup>132</sup>. De acuerdo a esta aproximación, la relación entre las reacciones en solución y en fase gas,  $r$ , está determinado como indica la *Ecuación* (19):

$$r = \frac{k_s}{k_g} \cong \frac{n10^{(2n-2)}}{e^{(n-1)}} \quad (19)$$

donde  $k_s$  y  $k_g$  son las constantes de velocidad de reacción en solución y en fase gas, respectivamente, y  $n$  representa el número total de moles de reactivos ( $n = 2$  para reacciones bimoleculares). Recordando de las *Ecuaciones* (15), (16) y (23), la constante de velocidad de una reacción puede expresar como la *Ecuación* (20):

$$k = vK^\ddagger \quad (20)$$

donde  $v$  es la frecuencia de vibracional de  $AB^\ddagger$  que lleva a la formación de los productos y  $K^\ddagger$  es la constante de equilibrio entre  $AB^\ddagger$  y los reactivos. De esta forma, la *Ecuación* (19) puede reescribirse como:

$$r = \frac{v_s K_s^\ddagger}{v_g K_g^\ddagger} \cong \frac{n10^{(2n-2)}}{e^{(n-1)}} \quad (21)$$

De acuerdo a la *Ecuación* (21),  $v_s$  y  $v_g$  son las frecuencias vibracionales del estado de transición en solución y fase gas, respectivamente y, dado que no se espera que el solvente modifique significativamente dicha frecuencia, se asume que  $v_s \cong v_g$ . Por lo tanto, la *Ecuación* (21) se puede expresar como una razón entre las constantes de equilibrio como se presenta en la *Ecuación* (22):

$$\frac{K_s^\ddagger}{K_g^\ddagger} \cong \frac{n10^{(2n-2)}}{e^{(n-1)}} \quad (22)$$

Considerando que la constante de equilibrio es función de la energía libre de activación:

$$\frac{e^{-\Delta G_s^\ddagger/RT}}{e^{-\Delta G_g^\ddagger/RT}} \cong \frac{n10^{(2n-2)}}{e^{(n-1)}} \quad (23)$$

donde  $\Delta G_s^\ddagger$  y  $\Delta G_g^\ddagger$  corresponden a las energías libres de Gibbs de activación en solución y en fase gas, respectivamente. Aplicando logaritmo natural y despejando  $\Delta G_s^\ddagger$ :

$$\Delta G_s^\ddagger \cong \Delta G_g^\ddagger - RT\{\ln[n10^{(2n-2)}] - (n - 1)\} \quad (24)$$

De acuerdo a la *Ecuación* (24), se puede ver que la  $\Delta G_s^\ddagger$  disminuye  $2.55 \text{ kcal/mol}$  para reacciones bimoleculares a  $298.15 \text{ K}$ , con respecto a la fase gas. Por lo tanto, si las correcciones por efecto de la caja de solvente no se consideran, la constante de velocidad quedaría subestimada aproximadamente 74 veces<sup>7</sup>.

Finalmente, es importante no olvidar que algunas reacciones pueden estar controladas por difusión. Dado que no todas las reacciones se encuentran en esta situación, esta corrección no es necesaria en todos los casos. Este fenómeno es frecuente en reacciones que involucran especies muy reactivas, p.e.  $HO^\bullet$ . Recordando que el encuentro entre dos moléculas está limitado por la velocidad a la que pueden difundirse en el solvente, cualquier constante de velocidad mayor a la velocidad de difusión ( $k \geq 10^9 M^{-1} s^{-1}$ ), carece de sentido físico<sup>7</sup>. Por lo tanto, aquellas reacciones cuyas constantes de velocidad se encuentren cercanas al límite de difusión deben corregirse. En estos casos, se obtiene una constante de velocidad aparente,  $k_{app}$ , no puede obtenerse directamente de cálculos de *TST* ya que ésta no considera los efectos de la difusión de los reactivos a través del solvente. Con el fin de incluir este efecto, se recurre a la teoría de Collins–Kimball<sup>133</sup>, *Ecuación* (25):

$$k_{app} = \frac{k_D k^{TST}}{k_D + k^{TST}} \quad (25)$$

donde  $k^{TST}$  es la constante de velocidad obtenida a través de la *TST* –corregida por todos los efectos antes mencionados: túnel cuántico, degeneración de caminos de reacción, conversión a estado estándar 1 M y caja de solvente– y  $k_D$  es la constante de rapidez de Smoluchowski<sup>134</sup> para una reacción bimolecular irreversible controlada por difusión, la cual, se calcula como se presenta en la *Ecuación* (26):

$$k_D = 4\pi R D_{AB} N_A \quad (26)$$

donde  $R$  es la distancia de reacción,  $N_A$  es el número de Avogadro y  $D_{AB}$  es el coeficiente de difusión mutua<sup>135</sup> de los reactivos, *Ecuación* (27):

$$D_{AB} = D_A + D_B \quad (27)$$

donde  $D_A$  y  $D_B$  se calculan a partir de la aproximación de Stokes–Einstein<sup>136,137</sup>:

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta a} \quad (28)$$

donde  $k_B$  es la constante de Boltzmann,  $T$  es la temperatura,  $\eta$  es la viscosidad del disolvente y  $a$  es el radio del soluto.

## 2.4 Teoría de Marcus

Para el cálculo de  $\Delta G^{\ddagger}$ , *Ecuación* (15), es necesario un *TS*. Para las reacciones tipo *FHT* este término se obtiene fácilmente aplicando la ley de Hess, *Ecuación* (29):

$$\Delta G^{\ddagger} = \Delta G_{TS}^{\circ} - \sum \Delta G_{reactivos}^{\circ} \quad (29)$$

donde  $\Delta G_{TS}^{\circ}$  es la energía libre de Gibbs involucrada en la formación del *TS* y  $\sum \Delta G_{reactivos}^{\circ}$  es la sumatoria de las energías libres de Gibbs involucradas en la formación de todos los reactivos implicados en la reacción. Sin embargo, para las reacciones tipo *SET* –o de transferencia electrónica– el cálculo de  $\Delta G^{\ddagger}$  no es tan

trivial ya que estas reacciones ocurren sin la participación de un  $TS^{7,113}$ . Para estos casos,  $\Delta G^{\ddagger}$  se calcula con base en la teoría de Marcus<sup>138-140</sup>.

Para que el proceso de transferencia electrónica ocurra, se requiere de la existencia de dos especies químicas –un donador y un aceptor–, las cuales, se encuentran en contacto o separadas por una distancia pequeña –en comparación con el diámetro de las moléculas del disolvente– y además deben tener la misma energía. Para que estas condiciones se den, las especies involucradas deben sufrir un cambio estructural y de disposición –sin romper enlaces– al igual que el medio a su alrededor, por lo tanto, debe existir un aumento de energía. La energía que se requiere para que dichos cambios ocurran es conocida como energía de reorganización nuclear,  $\lambda$ <sup>138-140</sup>.

Las energías potenciales de los estados electrónicos iniciales (reactivos) y de los estados electrónicos finales (productos), se representan con dos parábolas que son función de las coordenadas de reacción (*Figura 5*)<sup>113,138-140</sup>. En la *Figura 5*,  $\lambda$  corresponde a la separación vertical, en equilibrio geométrico, entre las parábolas de reactivos y productos.

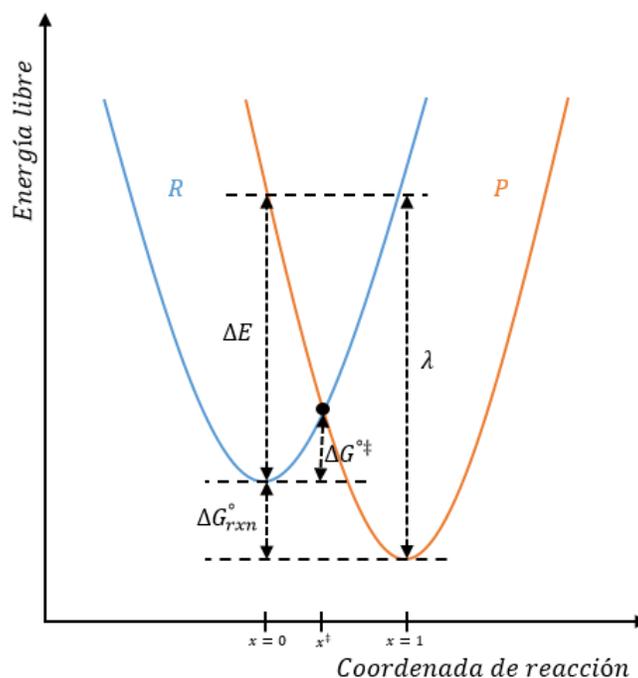
En el punto de intersección,  $x^{\ddagger}$ , entre las parábolas ocurre la transferencia del electrón, por lo que este punto corresponde también al  $\Delta G^{\ddagger}$  del proceso. De acuerdo con Marcus, para una reacción general de transferencia electrónica, dicha energía se puede calcular como indica la *Ecuación (30)*:

$$\Delta G^{\ddagger} = \frac{\lambda}{4} \left( 1 + \frac{\Delta G_{rxn}^{\circ}}{\lambda} \right)^2 \quad (30)$$

donde  $\lambda$  corresponde a la variación de energía asociada a la relajación vibracional de los reactivos después de que ocurre la transferencia electrónica vertical y puede calcularse como indica la *Ecuación (31)*:

$$\lambda = \Delta E - \Delta G_{rxn}^{\circ} \quad (31)$$

donde  $\Delta E$  es la diferencia de energía electrónica vertical entre reactivos y productos. El valor de  $\Delta E$  se calcula aplicando la ley de Hess con respecto a la energía electrónica en  $x = 0$  entre la superficie de productos y reactivos –los productos conservan la geometría de los reactivos en ese punto–.



**Figura 5.** Diagramas de energía potencial como función de las coordenadas de reacción en un proceso de transferencia electrónica. La superficie de reactivos (R) y productos (P) corresponden a las parábolas azul y anaranjada, respectivamente.

## 2.5 Constantes de acidez y fracciones molares

El comportamiento ácido–base es inherente a la gran mayoría de especies químicas en solución. Considerando que dicho comportamiento ejerce una gran influencia sobre otras propiedades químicas como son la solubilidad y la reactividad, es de crucial importancia tenerlo presente en estudios de interés químico, biológico, medicina, farmacia, etc., para poder comprender el comportamiento de las diferentes especies bajo diferentes condiciones.

La acidez de los compuestos químicos se expresa cuantitativamente a través del  $pK_a$  y permite determinar la proporción protonada o desprotonada de cada especie a un determinado valor de  $pH$ <sup>141</sup>, sin embargo, la estimación experimental de este valor puede ser una tarea complicada cuando las especies de interés son ácidos o muy fuertes o muy débiles, cuando son intermediarios de vida media corta o cuando son altamente tóxicos<sup>142</sup>. Por lo tanto, la determinación teórica de  $pK_a$  es una tarea que es foco de atención. A pesar de los esfuerzos y variedad de métodos que existen para aproximar este valor teóricamente, en la actualidad los valores de  $pK_a$  son calculados con poca precisión<sup>141</sup>, sin embargo, se ha establecido que una diferencia de hasta 2 unidades de  $pK_a$  con respecto al valor experimental, es una aproximación aceptable<sup>143</sup>.

Una de las mejores aproximaciones disponibles para calcular teóricamente los  $pK_a$ 's es la de parámetros ajustados (*FPA*, por sus siglas en inglés), la cual consiste en obtener una regresión lineal entre algún valor calculado –generalmente el  $\Delta G_{rxn}^\circ$  entre el ácido y su base conjugada– para el par ácido–base y los  $pK_a$ 's experimentales de un conjunto de moléculas de entrenamiento. Los parámetros empíricamente ajustados –ordenada al origen,  $C_0$ , y pendiente,  $m$ – obtenidos de esta manera pueden usarse para estimar los valores de  $pK_a$  de cualquier especie que sea estructuralmente parecida al conjunto de entrenamiento<sup>141,144</sup>. Se ha encontrado que los valores de *MUE* para esta aproximación son sistemáticamente inferiores a 0.5 unidades  $pK_a$  para especies tifenólicas<sup>141</sup>. De acuerdo a esta aproximación, los valores de  $pK_a$  se obtienen como indica la *Ecuación* (32):

$$pK_a^{calc} = m\Delta G_{AB} + C_0 \quad (32)$$

donde  $m$  es la pendiente,  $\Delta G_{AB}$  es la diferencia en energía libre de Gibbs entre el ácido y su base conjugada y  $C_0$  es la ordenada al origen. Los valores de  $m$  y  $C_0$  varían de acuerdo al nivel de teoría al que se trabaje<sup>141</sup>.

Una vez conocidos los valores de  $pK_a$ , se puede conocer las proporciones de la especie neutra y aniónica al valor de  $pH$  de interés. Dichas proporciones son

conocidas comúnmente como fracciones molares,  $\alpha$ . Para obtenerlas es necesario recordar la relación entre  $pK_a$  y la constante de acidez,  $K_a$ , *Ecuación* (33):

$$K_a = 10^{-pK_a} \quad (33)$$

Para el proceso de desprotonación expresado por la *Ecuación* (34):



La constante de equilibrio se puede expresar como muestra la *Ecuación* (35):

$$K_a = \frac{[A^-][H_3O^+]}{[AH]} \quad (35)$$

donde  $[AH]$  es la concentración del ácido o especie neutra/protonada,  $[A^-]$  la concentración de la base conjugada o especie aniónica/desprotonada y  $[H_3O^+]$  la concentración de ión hidrónico, la cual, puede ser reemplazada de manera general como la concentración de protones,  $[H^+]$ . De acuerdo con la ecuación de Henderson–Hasselbach, la fracción molar de la especie neutra y la aniónica que existe a un determinado valor de  $pH$  se puede obtener como indican las *Ecuaciones* (36) y (37), respectivamente:

$$\alpha_{neutro} = \frac{[H^+]}{K_a + [H^+]} \quad (36)$$

$$\alpha_{anión} = \frac{K_a}{K_a + [H^+]} \quad (37)$$

donde  $[H^+] = 10^{-pH}$

## 2.6 Constantes totales y constantes globales

En medio acuoso es posible encontrar más de una forma ácido–base de una misma especie química en diferentes proporciones –dependiendo de su  $pK_a$ – a un valor determinado de  $pH$ . Las diferentes proporciones pueden llegar a afectar

significativamente la representación del proceso real. Con el fin de lograr una mejor aproximación a las constantes experimentales, es necesario corregir las constantes calculadas por la fracción molar de los reactivos presentes al  $pH$  de interés<sup>7</sup>. Por ejemplo, para las reacciones bajo estudio, entre un  $AH$  y un  $R^*$ , la constante de velocidad total,  $k_{tot}$ , a un  $pH$  dado se calcula como indica la *Ecuación (38)*:

$$k_{tot} = \alpha_{(AH)}\alpha_{(R^*)}k_{app}^{TST} \quad (38)$$

donde  $\alpha_{(AH)}$  y  $\alpha_{(R^*)}$  corresponden a las fracciones molares de los reactivos –el antioxidante y el radical, respectivamente– al  $pH$  de interés y  $k_{app}^{TST}$  es la constante de velocidad calculada utilizando la *Ecuación (15)* y corregida por efecto de la difusión de ser necesario.

Finalmente, una vez que se ha calculado la constante de velocidad para cada una de las vías de reacción posibles, se realiza el cálculo de la constante de velocidad global,  $k_{global}$ , la cual se obtiene al sumar todos los valores de  $k_{tot}$  corregidos para las fracciones molares de los reactivos al  $pH$  de interés<sup>7</sup>. Por ejemplo, para una reacción modelo entre un  $AH$  y un  $R^*$  donde el antioxidante presenta un equilibrio ácido–base y las posibles vías de reacción son  $HAT$ ,  $PCET$  y  $SET$ , la constante global se obtiene como la suma de las  $k_{tot}$  por cada una de las vías ya mencionadas, *Ecuación (39)*:

$$k_{global} = k_{tot}^{HAT} + k_{tot}^{PCET} + k_{tot}^{SET} \quad (39)$$

# Capítulo III

## Hipótesis y objetivos

---

### 3.1 Hipótesis

Con base en las propiedades biológicas conocidas de especies tiofenólicas, se espera que éstas sean buenos antioxidantes secundarios con la capacidad de reparar el daño oxidativo sufrido por especies de interés biológico.

### 3.2 Objetivo general

Evaluar la capacidad reparadora (actividad antioxidante secundaria) de especies tiofenólicas.

### 3.3 Objetivos particulares

- Determinar la viabilidad termodinámica de todas las posibles vías de reacción entre los antioxidantes (tiofenoles) y los modelos de daño oxidativo (residuos de los aminoácidos triptófano y leucina) en medio acuoso y lipídico.
- Calcular las constantes de acidez teóricas de las especies tiofenólicas y determinar sus correspondientes fracciones molares.
- Calcular los estados de transición asociados a las reacciones, viables termodinámicamente, de transferencia formal de hidrógeno en medio

acuoso y lipídico, así como las superficies de energía potencial para comprobar que los reactivos conectan con los productos.

- Realizar un análisis poblacional de cargas de Mulliken y de densidad de espín de Hirshfeld sobre cada uno de los puntos de la superficie de energía potencial con el fin de identificar si se trata de un mecanismo concertado o secuencial.
- Una vez determinada la viabilidad termodinámica y los mecanismos de reacción, calcular las constantes de velocidad.

# Capítulo IV

## Metodología

---

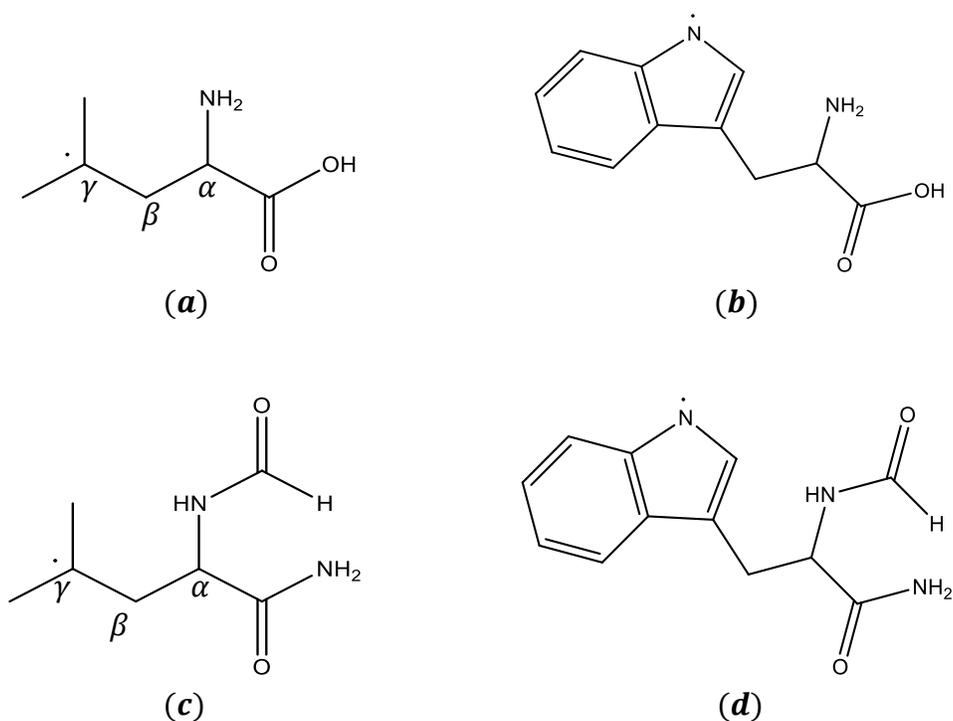
En la actualidad existe una amplia variedad de estrategias o protocolos computacionales que pueden ser empleados para estudiar la actividad antioxidante de compuestos químicos. La mayoría de estas estrategias pueden catalogarse dentro de tres grupos principales: 1) reactividad intrínseca, 2) termodinámicas y 3) cinéticas. Si bien las dos primeras estrategias pueden brindar información fisicoquímica útil, existen varios aspectos relacionados con la cuantificación de la capacidad antioxidante que no se pueden tener en cuenta al usarlas<sup>73</sup>. Las estrategias cinéticas, aunque más laboriosas y complejas, son particularmente importantes en estudios de dilucidación de actividad antioxidante ya que son capaces de dar cuenta de aspectos fundamentales siempre que se lleven a cabo adecuadamente.

En el presente trabajo se emplea el protocolo *QM – ORSA*. Aunque en principio está diseñado para evaluar cuantitativamente la actividad antioxidante primaria de compuestos químicos, puede aplicarse para obtener información cinética –constantes de velocidad– de otras reacciones en solución con un alto nivel de precisión. Este protocolo ha sido validado por comparación con resultados experimentales y se ha demostrado que brinda resultados con incertidumbres no mayores a las que surgen del experimento<sup>7</sup>.

A continuación se detalla la metodología seguida, con base en el protocolo *QM – ORSA*, para la dilucidación de la actividad antioxidante secundaria –reparación de moléculas de interés biológico– de tiofenoles y la capacidad pro–oxidante de los mismos.

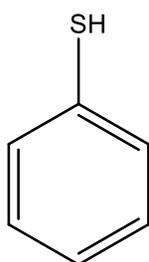
## 4.1 Actividad antioxidante secundaria

Como primer paso, se establecieron los sistemas de estudio. Las especies de interés biológico elegidas para modelar el daño causado por *OS* fueron los aminoácidos leucina y triptófano. Se sabe que la leucina, al ser atacada por  $R^\bullet$  o *ROS*, genera mayoritariamente un radical centrado en carbono en la posición  $\gamma$ <sup>145-147</sup> de su cadena lateral (*Figura 6a*). Por otro lado, en el triptófano se genera un radical centrado en nitrógeno<sup>148</sup> (*Figura 6b*). De igual manera, se consideraron los modelos peptídicos de cada uno de los aminoácidos (*Figuras 6c y 6d*).

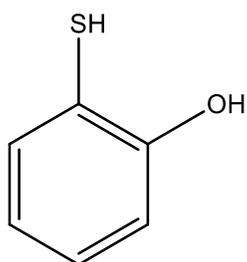


**Figura 6.** (a) Radical leucina centrado en carbono, en la posición  $\gamma$ , (b) radical triptofanil centrado en nitrógeno, (c) modelo peptídico para la leucina y (d) modelo peptídico para el triptófano.

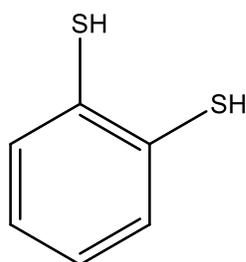
Como posibles especies reparadoras (especies antioxidantes), se probaron un total de doce tiofenoles (*Figuras 7A – 7L*). Estas especies se eligieron con base en sus propiedades biológicas<sup>2,3,105,106</sup> o los grupos sustituyentes presentes.



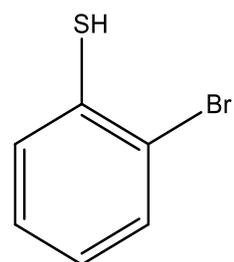
(A)  
*bencentiol*



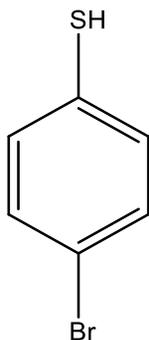
(B)  
*2-sulfanilfenol*



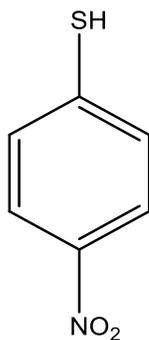
(C)  
*bencen-1,2-ditol*



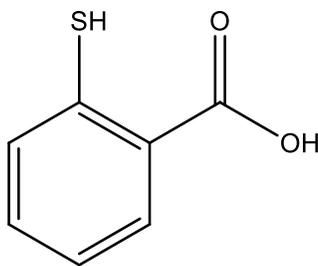
(D)  
*2-bromobencentiol*



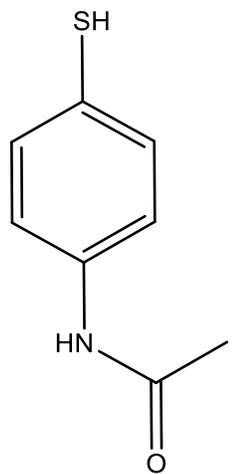
(E)  
*4-bromo  
bencentiol*



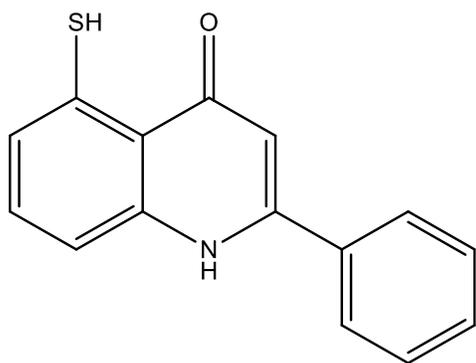
(F)  
*4-nitrobenen  
tiol*



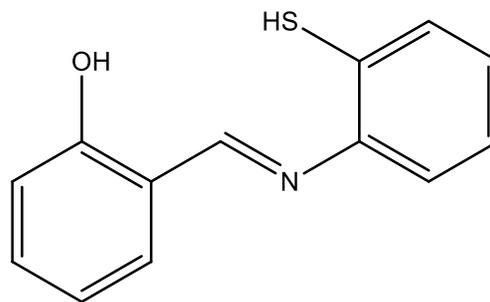
(G)  
*ácido 2-sulfanil  
benzóico*



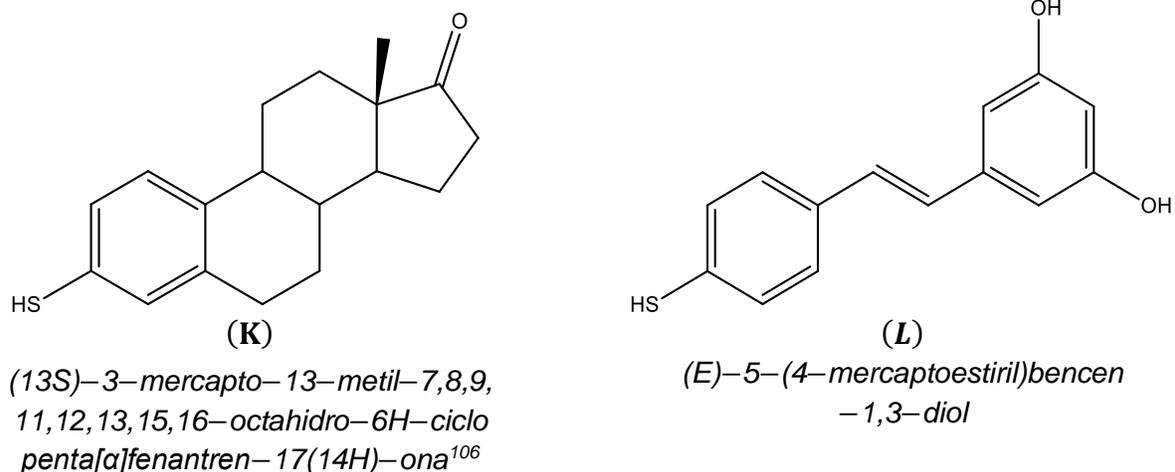
(H)  
*N-(4-mercaptop  
fenil)acetamida*



(I)  
*5-mercpto-2-fenilquinolin-4  
(1H)-ona<sup>2</sup>*

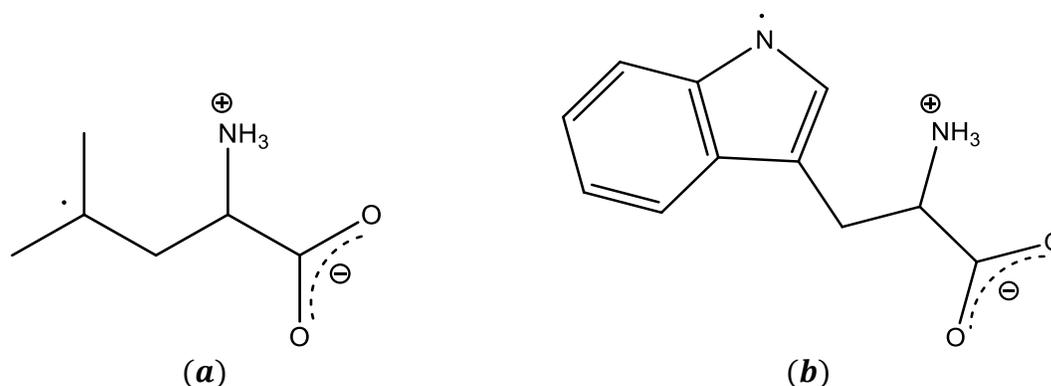


(J)  
*(E)-2-(((2-mercaptop  
fenil)imino)  
metil)fenol<sup>3,105</sup>*



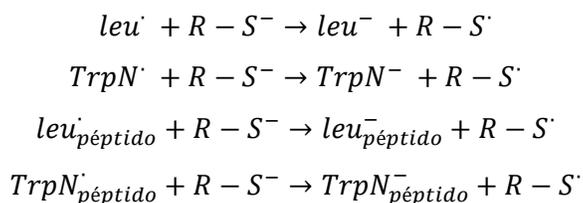
**Figura 7.** Especies tiofénolicas que funcionan como antioxidantes (nombres IUPAC).

Una vez elegidos los sistemas de estudio, se modelaron computacionalmente para cada vía de reacción, *SET* y *FHT*, los principales puntos estacionarios que intervienen, es decir, los reactivos, el estado de transición y los productos, simulando las condiciones fisiológicas a  $pH = 7.4$  en los medios acuoso y lipídico (Esquema 7). El Esquema 7 se propone con base en el mapa completo de donador-aceptor de electrones (*FEDAM*, por sus siglas en inglés)<sup>73,111</sup> (Ver Figura 1). Es importante recordar que en medio acuoso a dicho valor de  $pH$  los aminoácidos se encuentran en su forma zwitteriónica (Figura 8a y 8b).

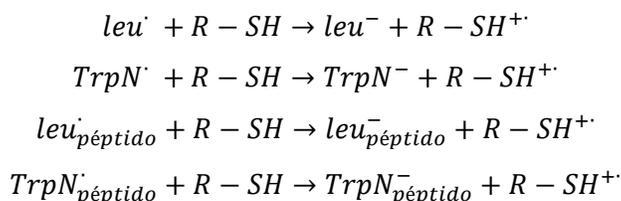


**Figura 8.** Aminoácidos a  $pH = 7.4$  en medio acuoso: (a) leucina zwitteriónica y (b) triptófano zwitteriónico.

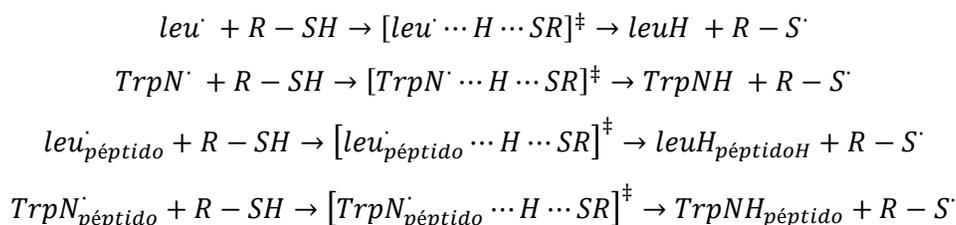
**Vía SET en medio acuoso:**



**Vía SET en medio lipídico:**



**Vía FHT en medio acuoso y lipídico:**



**Esquema 7.** Modelado de los mecanismos SET y FHT a pH = 7.4 en medio acuoso y lipídico.

Todos los cálculos se realizaron con el programa *Gaussian 09*<sup>131</sup>, mediante la Teoría de los Funcionales de la Densidad, haciendo uso del funcional *M06-2X*<sup>149</sup> y la base *6-31++G(d,p)*.

A cada una de las estructuras modeladas se les realizaron cálculos de optimización de geometría y de frecuencias. Por medio de los cálculos de frecuencias, se identificaron los mínimos locales y los estados de transición mediante el número de frecuencias imaginarias –cero para un mínimo local y uno para un estado de transición–. En el caso de los estados de transición, se confirmó que la frecuencia imaginaria correspondiera al movimiento esperado a lo largo de la coordenada de reacción. Para las reacciones de tipo *FHT*, se calcularon las *IRC* para confirmar que los *TS* conectan con los respectivos reactivos y productos.

Los efectos del disolvente fueron introducidos en todos los cálculos mediante el uso del método de disolvente continuo *SMD*<sup>123</sup>. Los disolventes usados fueron agua y metilbutanoato para simular el medio acuoso y lipídico, respectivamente.

Las correcciones termodinámicas a 298.15 *K* se incluyeron en el cálculo de energías relativas siguiendo el protocolo *QM – ORSA*<sup>7</sup>.

Las constantes de velocidad se calcularon haciendo uso de la Teoría del Estado de Transición convencional<sup>125,126</sup>, *Ecuación (15)*. Para los mecanismos que involucran transferencia electrónica –vía *SET* –, las  $\Delta G^{\ddagger}$  se estimaron haciendo uso de la Teoría de Marcus<sup>138-140</sup>. Las correcciones por efecto del túnel cuántico, para reacciones *FHT*, se calcularon usando la aproximación de Eckart<sup>130</sup>.

Para todas las reacciones que involucran la formación de un *TS*, los valores de  $\Delta G^{\ddagger}$  se corrigieron para el estado estándar 1 *M*<sup>7</sup> y los efectos de la caja de solvente<sup>7,132</sup>.

En el caso de las reacciones con constantes de velocidad cercanas al límite de difusión, se hizo uso de la Teoría de Collins–Kimball<sup>133</sup>, *Ecuación (25)*.

Posteriormente, las constantes de velocidad se corrigieron considerando los equilibrios ácido–base a *pH* fisiológico<sup>7</sup> (~7.4) como muestra la *Ecuación (38)*. Con ese propósito, se tomó en cuenta la abundancia de las especies involucradas en la reacción al *pH* de interés. Las correspondientes fracciones molares se calcularon a partir de los valores de  $pK_a$  de los reactivos como indican las *Ecuaciones (36)* y *(37)*. El método de parámetros ajustados<sup>141</sup> se empleó con el fin de obtener los valores teóricos de  $pK_a$ , *Ecuación (32)*. Finalmente se calcularon las constantes globales,  $k_{global}$ , como se indica en la *Ecuación (39)*.

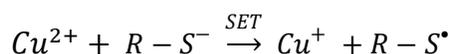
Para la determinación de los mecanismos de reacción se realizó un análisis poblacional de las cargas atómicas y de las densidades de espín del *H* –donador (*AH*), el *H* –aceptor (*R*<sup>\*</sup>) y el núcleo transferido. Con este fin, a partir del *TS* se calculó la coordenada intrínseca de reacción (*IRC*) que conecta a los reactivos con



A  $pH$  fisiológico y en medio acuoso, los tiofenoles se desprotonan generando aniones, los cuales, son mejores reductores en comparación con las especies neutras. Esto significa que bajo las condiciones de reacción propuestas, las especies tiofenólicas pueden actuar como reductores de  $Cu(II)$ , lo cual, implica un comportamiento pro-oxidante.

Para el estudio de la capacidad pro-oxidante de tiofenoles, se implementó la metodología propuesta en el protocolo  $QM - ORSA^7$ , siguiendo los pasos anteriormente mencionados en la *Sección 4.1*.

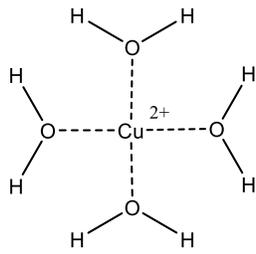
Considerando que se trata de una reacción tipo óxido-reducción en la cual, el antioxidante se oxida y el  $Cu(II)$  se reduce –transferencia de electrón– el único mecanismo posible es  $SET$ , *Esquema 9*.



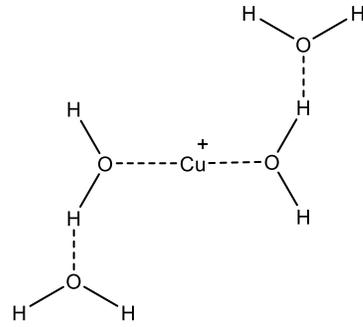
**Esquema 9.** Modelo de la reacción general oxido – reducción vía  $SET$  a  $pH = 7.4$  en medio acuoso.

Adicionalmente, en medio acuoso, el  $Cu(II)$  se encuentra hidratado. En estudios previos, se ha demostrado que el  $Cu(II)$  se coordina con cuatro moléculas de agua y adquiere una geometría cuadrada plana. Una vez que se reduce, el  $Cu(I)$  adquiere una geometría lineal (*Figura 9*)<sup>100,154</sup>.

Una vez elegidos los sistemas de estudio, se modelaron computacionalmente para la vía  $SET$  los principales puntos estacionarios que intervienen, es decir, los reactivos y los productos, simulando las condiciones fisiológicas a  $pH = 7.4$  en medio acuoso. Todos los cálculos se realizaron con el programa *Gaussian 09*<sup>131</sup>, mediante  $DFT$ , haciendo uso del funcional  $LC-\omega PBE$ <sup>155</sup> y la base  $6-31++G(d,p)$ .



(a)



(b)

**Figura 9.** Configuraciones hidratadas más estables de (a)  $Cu(II)$  y (b)  $Cu(I)$  usando un modelo mixto de solvatación.

# Capítulo V

## Resultados

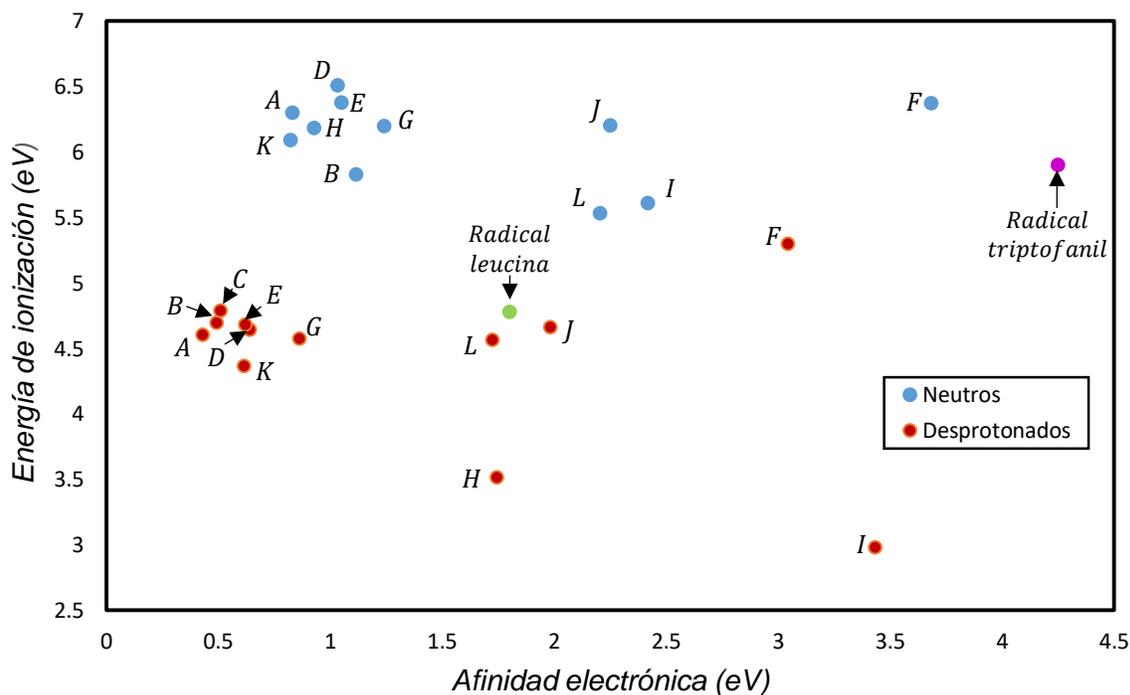
---

En la actualidad existe una amplia variedad de estudios centrados en la elucidación de las propiedades antioxidantes de especies químicas de interés biológico. Aunque en la mayoría de los casos, la actividad antioxidante se ha sumado a una lista de propiedades deseables, recientemente se ha encontrado que muchas de estas especies pueden ejercer un efecto dual, comportándose también como pro-oxidantes. El presente trabajo se centra en el estudio de la capacidad reparadora de tiofenoles (actividad antioxidante secundaria), así como su comportamiento pro-oxidante a través del estudio de la reducción de  $Cu(II)$ . Para dicho fin, se realizó un análisis de la viabilidad termodinámica y cinética, así como de los posibles mecanismos de reacción de estas especies.

En la *Figura 10*, se encuentra el mapa completo de donador-aceptor de electrones (*FEDAM*, por sus siglas en inglés)<sup>73,111</sup> de las especies tiofenólicas (donadores) con respecto al radical leucina y el radical triptofanil (aceptores). Los puntos azules representan a los tiofenoles en su forma protonada mientras que los puntos en anaranjado representan a estas mismas especies pero en su forma desprotonada. El punto verde representa al radical leucina y el morado al radical triptofanil.

Con base en lo propuesto en la *Figura 1*, se puede observar que los tiofenoles protonados no son buenos donadores de electrones ya que tienen los mayores valores de *energía de ionización (EI)*, es decir, difícilmente perderán un electrón, mientras que los bajos valores de *afinidad electrónica (AE)* sugieren que tampoco son buenos aceptores de electrones. Por otro lado, los tiofenoles en su

forma desprotonada son mejores donadores de electrones (bajas  $EI$  y  $AE$ ). Con respecto al radical leucina, los valores de  $EI$  y  $AE$ , sugieren que esta especie no es buena aceptora de electrones, lo cual, es de esperarse considerando que el radical se encuentra centrado en un átomo de carbono. Lo contrario ocurre con el radical triptofanil, ya que éste es mejor aceptor de electrones. Con base en lo anterior, se puede dar soporte a lo planteado en el *Esquema 7*, es decir, la reparación vía *SET* en medio acuoso se da a partir de los tiofenoles desprotonados (en su mayoría, buenos donadores de electrones). El análisis termodinámico y cinético comprobará que el radical de leucina no se repara a través de la donación de electrones (vía *SET*) ya que tiene una baja  $AE$ , mientras que el radical triptofanil si lo hace.



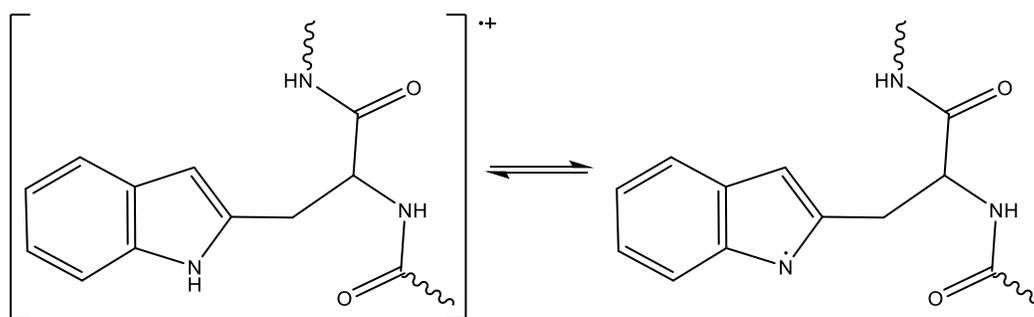
**Figura 10.** Mapa completo de donador-aceptor de electrones (*FEDAM*, por sus siglas en inglés)<sup>73,111</sup> de las especies tiofenólicas (donadores) con respecto al radical leucina y el radical triptofanil (aceptores) en medio acuoso. Nivel de cálculo  $M06-2X/6-31++G(d,p)$ .

Recordando que el medio de reacción juega un papel muy importante en la reactividad química, previo al análisis termodinámico se hacen un par de consideraciones para tener en cuenta el efecto del disolvente.

### 5.1 Equilibrios ácidos–base y $pK_a$ 's

En medio acuoso, la mayoría de las especies químicas bajo estudio presentan equilibrios ácido–base, razón por la cual, las fracciones molares correspondientes a cada una de ellas afecta las constantes de velocidad.

Cuando el triptófano es blanco del estrés oxidativo, se oxida generando al catión radical triptofanilo ( $TrpN^{*\cdot+}$ ), el cual, en medio acuoso rápidamente se desprotona dando paso al radical neutro (centrado en nitrógeno) triptofanilo ( $TrpN^{\cdot}$ ). El  $pK_a$  del  $TrpN^{*\cdot+}$  es 4.7, por lo que a  $pH$  fisiológico las fracciones molares de  $TrpN^{*\cdot+}$  y  $TrpN^{\cdot}$  son 0.002 y 0.998, respectivamente (*Esquema 10*)<sup>90,148</sup>. Por otro lado, el daño oxidativo que sufre la leucina ocurre exclusivamente a través de reacciones *HAT* dando origen a radicales centrados en carbono<sup>145-147</sup>, los cuales, son neutros y no se afectan por el medio ni el  $pH$ . Para el presente estudio, se tomó como referencia al radical de carbono centrado en la posición  $\gamma$ .



**Esquema 10.** Equilibrio ácido–base del triptófano.

En medio acuoso y a  $pH$  fisiológico, las especies tifenólicas que funcionan como antioxidantes se encuentran desprotonadas en diferentes proporciones. Los

valores de  $pK_a$  para las especies *A* y *F* (Ver *Figura 7*) son 6.615 y 4.715, respectivamente<sup>141</sup>, sin embargo, para el resto de las especies no existe información experimental de dichos valores, por lo que se calcularon teóricamente empleando el método de parámetros ajustados como indica la *Ecuación (32)*<sup>141</sup>. Los valores de los parámetros  $m$  y  $C_0$  varían de acuerdo al nivel de teoría, no obstante, para *M06-2X/6-31++G(d,p)* que es el nivel empleado en el presente estudio dichos valores no se encuentran parametrizados, por tal motivo, los valores de  $pK_a$  presentados se obtuvieron como un promedio de los valores calculados empleando el mismo funcional y una base más grande *6-311++G(d,p)* y una base más pequeña *6-31+G(d)*. En la *Tabla 3* se presentan los valores de  $pK_a$  calculados para las especies tiofenólicas.

En la *Tabla 3* se encuentran los valores de  $pK_a$  obtenidos usando los parámetros para los niveles de teoría *M06-2X/6-311++G(d,p)* y *M06-2X/6-31+G(d)*. El promedio de dichos valores se tomó como el  $pK_a$  de las especies tiofenólicas y con base a éstos se calcularon las fracciones molares y se corrigieron las constantes de velocidad.

**Tabla 3.** Energía libre de Gibbs de reacción a 298.15 K y  $pK_a$ 's con *M06-2X*.

Especie	$\Delta G_{rxn}^\circ$ kcal/mol	$pK_a$		
		<i>6-311++G(d,p)</i> <sup>[a]</sup>	<i>6-31+G(d)</i> <sup>[b]</sup>	<i>6-31++G(d,p)</i> <sup>[c]</sup>
<i>A</i>	283.769	6.644	7.387	7.015
<i>B</i>	278.628	4.813	5.572	5.192
<i>C</i>	278.716	4.845	5.603	5.224
<i>D</i>	283.773	6.645	7.388	7.017
<i>E</i>	282.364	6.144	6.890	6.517
<i>F</i>	277.465	4.399	5.161	4.780
<i>G</i>	292.624	9.796	10.512	10.154
<i>H</i>	283.054	6.389	7.134	6.762
<i>I</i>	287.696	8.042	8.773	8.407
<i>J</i>	283.097	6.405	7.149	6.777
<i>K</i>	284.535	6.916	7.657	7.287
<i>L</i>	283.588	6.579	7.323	6.951

<sup>[a]</sup>  $m = 0.356$  y  $C_0 = -94.378$ , <sup>[b]</sup>  $m = 0.353$  y  $C_0 = -92.784$ <sup>141</sup> y <sup>[c]</sup> promedio de valores de  $pK_a$  entre <sup>[a]</sup> y <sup>[b]</sup>.

Comparando los valores de  $pK_a$  experimentales de las especies *A* y *F* con los valores obtenidos en la *Tabla 3*, se puede observar que la aproximación hecha para obtener dichos valores brinda resultados confiables ya que la diferencia entre el valor experimental y el valor calculado es de 0.4 y 0.065 unidades de  $pK_a$ , respectivamente, de tal forma que los valores calculados están muy por debajo del error máximo aceptado (2 unidades de  $pK_a$ ) y cercanos a errores experimentales en ciertos casos.

Con base a los valores de  $pK_a$  obtenidos en la *Tabla 3*, se calcularon las constantes de acidez y las respectivas fracciones molares para cada especie a condiciones fisiológicas. En la *Tabla 4* se pueden encontrar dichos valores. Para las especies cuyos valores de  $pK_a$  se conocen experimentalmente (*A*, *F* y *TrpN\**), se tomaron dichos valores y no los calculados.

**Tabla 4.** Constantes de acidez y fracciones molares a  $pH = 7.4$  y  $298.15\ K$  en medio acuoso. Nivel de cálculo M06-2X/6-31++G(d,p).

<b>Especie</b>	<b><math>pK_a</math></b>	<b><math>K_a</math></b>	<b><math>\alpha_{neutro}</math></b>	<b><math>\alpha_{aniónico}</math></b>
<i>A</i>	6.615	2.43E-07	0.141	0.859
<i>B</i>	5.192	6.42E-06	0.006	0.994
<i>C</i>	5.224	5.97E-06	0.007	0.993
<i>D</i>	7.017	9.62E-08	0.293	0.707
<i>E</i>	6.517	3.04E-07	0.116	0.884
<i>F</i>	4.715	1.93E-05	0.002	0.998
<i>G</i>	10.154	7.01E-11	0.999	0.001
<i>H</i>	6.762	1.73E-07	0.187	0.813
<i>I</i>	8.407	3.91E-09	0.944	0.056
<i>J</i>	6.777	1.67E-07	0.193	0.807
<i>K</i>	7.287	5.17E-08	0.435	0.565
<i>L</i>	6.951	1.12E-07	0.262	0.738
<b><i>TrpN*</i></b>	4.700	2.00E-05	0.998	0.002

Las constantes de acidez permiten conocer de forma preliminar la reactividad de las especies bajo estudio ya que a mayor valor, la especie química en cuestión será más ácida, por lo tanto, a  $pH$  fisiológico la forma aniónica o desprotonada

predominará. Por el contrario, a menor valor de la constante, se espera que la forma neutra o protonada tenga un papel predominante al  $pH$  de interés.

Las fracciones molares de los reactivos a un determinado valor de  $pH$  permiten predecir qué especie puede ser importante para explicar las constantes de velocidad ya que, si se asume que todas las reacciones ocurren a velocidades cercanas al límite de difusión, serán éstas las que determinen el límite superior de las velocidades de reacción<sup>113</sup>.

## 5.2 Reparación de leucina

Con base en los equilibrios ácido–base y las fracciones molares al  $pH$  de interés, se identificaron las especies que pueden ser relevantes en los procesos de reparación en medio acuoso. Posteriormente se procedió a identificar aquellas reacciones que son viables termodinámicamente. Con este fin, se calcularon los valores de energía libre de Gibbs de reacción,  $\Delta G_{rxn}^{\circ}$ , para todas las posibles reacciones entre el radical leucina centrado en el carbono  $\gamma$  y los doce diferentes tiofenoles que funcionan como antioxidantes por ambos mecanismos (*SET* y *FHT*) (*Esquema 7*). Los valores de  $\Delta G_{rxn}^{\circ}$  se obtienen aplicando la ley de Hess como se plantea en la *Ecuación (40)*:

$$\Delta G_{rxn}^{\circ} = \sum \Delta G_{productos}^{\circ} - \sum \Delta G_{reactivos}^{\circ} \quad (40)$$

Considerando además que a condiciones fisiológicas el medio acuoso no es el único presente, también se realizaron los pertinentes análisis en un medio lipídico (no polar). Lo anterior se realiza con el fin de predecir si las reacciones de reparación podrían ocurrir en la membrana celular o en cavidades hidrofóbicas dentro de las proteínas<sup>113</sup>. Con este fin, se considera un disolvente con una constante dieléctrica considerablemente menor a la del agua ( $\epsilon_{agua} = 78.3553$ ). Para simular el medio lipídico se empleó como disolvente el metilbutanoato, el cual, se caracteriza por

tener una constante dieléctrica mucho menor que la del agua ( $\epsilon_{\text{metilbutanoato}} = 5.5607$ ).

Todas aquellas reacciones que tengan un valor negativo de energía libre de Gibbs de reacción ( $\Delta G_{rxn}^{\circ} < 0$ ) son exergónicas, lo cual significa que se encuentran termodinámicamente favorecidas. En la *Tabla 5* se encuentran los valores de  $\Delta G_{rxn}^{\circ}$  obtenidos por ambas vías de reacción tanto en medio acuoso como lipídico.

**Tabla 5.** Energía libre de Gibbs de reacción  $\Delta G_{rxn}^{\circ}$ , kcal/mol) a 298.15 K para las reacciones de reparación de leucina en medio acuoso y lipídico. Nivel de cálculo M06-2X/6-31++G(d,p).

Especie	Acuoso		Lipídico	
	SET	FHT	SET	FHT
<b>A</b>	49.65	-15.62	104.98	-15.94
<b>B</b>	51.51	-18.90	100.54	-20.38
<b>C</b>	52.59	-17.73	103.03	-17.94
<b>D</b>	52.22	-13.05	110.30	-13.28
<b>E</b>	51.49	-15.18	107.02	-15.70
<b>F</b>	65.06	-6.51	118.87	-12.30
<b>G</b>	43.06	-13.35	108.35	-12.78
<b>H</b>	48.40	-17.58	95.97	-17.74
<b>I</b>	47.05	-14.29	97.79	-14.60
<b>J</b>	50.39	-15.55	100.00	-14.92
<b>K</b>	47.40	-17.10	99.34	-17.22
<b>L</b>	46.65	-18.80	91.86	-18.21

Como era de esperarse, la reparación del radical de leucina a través de la vía SET en medio acuoso no ocurre. Los valores de  $\Delta G_{rxn}^{\circ}$  revelan que estas reacciones se encuentran sumamente desfavorecidas. Lo anterior se debe principalmente a la baja afinidad electrónica<sup>111</sup> de los radicales centrados en carbono. Aunque la leucina dañada es un radical terciario (el más estable), el cual, al recibir un electrón proveniente del AH, genera un carbanión terciario (el menos estable), el medio acuoso estabiliza dicho carboanión dando como resultado a una especie más estable que el radical del que proviene, sin embargo, la ganancia de estabilidad por

parte de la leucina no compensa la pérdida que sufren los *AH*, de tal forma que el proceso neto es endergónico en todos los casos. Considerando que las reacciones que proceden por la vía *SET* implican la formación de especies iónicas, es lógico esperar que las reacciones en medio lipídico tampoco procedan ya que el medio no permite la estabilización de dichas especies. Por lo tanto, la reparación de la leucina no ocurre a través del mecanismo *SET* en ningún medio de reacción.

Por otro lado, todas las reacciones por la vía *FHT* son termodinámicamente viables en ambos medios ya que cuando el radical de leucina gana un átomo de hidrógeno, genera una especie neutra considerablemente más estable. Para estos casos, la ganancia de estabilidad por parte de la leucina compensa la pérdida de aromaticidad de los *AH* de tal forma que los procesos netos son exergónicos.

De acuerdo con el principio de Bell–Evans–Polanyi<sup>156</sup>, las reacciones más exergónicas corresponden a las reacciones con energías de activación menores, por lo tanto, deberían ser las reacciones cinéticamente más favorecidas. Es decir, se esperaría que la reacción entre el radical leucina y el tiofenol *B* tuviera la mayor constante de velocidad vía *FHT*, sin embargo, es importante recordar el efecto del *pH*. Como se verá más adelante, los equilibrios ácido–base y las fracciones molares a las condiciones de interés pueden modificar drásticamente la reactividad de las especies involucradas. Una vez que se establecen cuáles son las reacciones termodinámicamente viables, se procede a realizar un análisis cinético con el fin dilucidar la actividad antioxidante. Todas aquellas reacciones endergónicas no se consideran para el análisis cinético.

El análisis cinético se realizó siguiendo la metodología propuesta por el protocolo *QM – ORSA*. En las *Tablas 6 y 7* se encuentran los valores de las energías libres de activación,  $\Delta G^{\ddagger}$ , así como de las constantes de velocidad obtenidas a través de la *TST* convencional,  $k^{TST}$ , las aparentes,  $k_{app}$ , la totales,  $k_{tot}$ , y las globales,  $k_{global}$ , en medio acuso y lipídico, respectivamente. Los valores de  $\Delta G^{\ddagger}$  se calcularon como indica la *Ecuación (29)*. Las  $k^{TST}$  se calcularon a través de la *TST* convencional y se encuentran corregidas por efecto túnel y los caminos de

degeneración como indica la *Ecuación* (15). Aquellas constantes cercanas al límite de difusión ( $k^{TST} \geq 10^9 M^{-1}s^{-1}$ ), se corrigieron por efecto de la difusión como indica la *Ecuación* (25) obteniéndose las  $k_{app}$ . Las  $k_{app}$  se corrigieron por la fracción molar de los reactivos presentes a  $pH = 7.4$  como indica la *Ecuación* (38) dando paso a las  $k_{tot}$ . Finalmente, las  $k_{global}$  se obtuvieron como la suma de las  $k_{tot}$  por las diferentes vías de reacción como indica la *Ecuación* (39).

**Tabla 6.** *Energía libre de activación y constantes de velocidad en medio acuoso a 298.15 K para la reparación de leucina. Nivel de cálculo M06–2X/6–31++G(d,p).*

<b>Especie</b>	$\Delta G^{\ddagger[a]}$	$k^{TST[b]}$	$k_{app}^{[b]}$	$k_{tot}^{[b]}$	$k_{global}^{[b]}$
<b>A</b>	5.68	1.03E+10	1.26E+09	1.77E+08	1.77E+08
<b>B</b>	4.84	4.30E+10	1.29E+09	7.98E+06	7.98E+06
<b>C</b>	4.20	1.26E+11	1.31E+09	8.69E+06	8.69E+06
<b>D</b>	6.35	3.34E+09	9.78E+08	2.86E+08	2.86E+08
<b>E</b>	6.51	2.58E+09	8.67E+08	1.00E+08	1.00E+08
<b>F</b>	8.02	2.00E+08	2.00E+08	4.13E+05	4.13E+05
<b>G</b>	9.97	7.44E+06	7.44E+06	7.43E+06	7.43E+06
<b>H</b>	7.93	2.32E+08	2.32E+08	4.34E+07	4.34E+07
<b>I</b>	11.27	1.22E+06	1.22E+06	1.15E+06	1.15E+06
<b>J</b>	5.43	1.59E+10	1.12E+09	2.15E+08	2.15E+08
<b>K</b>	7.31	6.69E+08	6.69E+08	2.91E+08	2.91E+08
<b>L</b>	8.16	1.59E+08	1.59E+08	4.16E+07	4.16E+07

<sup>[a]</sup> en unidades de *kcal/mol* y <sup>[b]</sup> en unidades de  $M^{-1}s^{-1}$ .

Como puede observarse en la *Tabla 6*, todas las reacciones planteadas para la reparación del radical leucina en medio acuoso ocurren a altas velocidades, lo cual, es un indicativo de que las especies tiofenólicas están actuando como buenos antioxidantes secundarios. De acuerdo al principio de Bell–Evans–Polanyi<sup>156</sup>, las reacciones con las barreras de energía más bajas son también las reacciones más favorecidas cinéticamente, estando incluso controladas por difusión ( $k_{app}$ ). Recordando que en medio acuoso las fracciones molares pueden jugar un papel muy importante en la reactividad de las especies involucradas, podemos observar que en algunos casos, este factor modifica las constantes de velocidad hasta tres órdenes de magnitud ( $k_{tot}$ ). Por ejemplo, la reacción de reparación entre el radical

de leucina y la especie *C* es la que ocurre a mayor velocidad, sin embargo, dado que la fracción molar del tiofenol a las condiciones de reacción es de apenas 0.007, la constante total decrece 151 veces. A pesar de la baja proporción a la que se encuentra la especie reparadora, ésta es un buen antioxidante. Finalmente, las  $k_{globales}$  y las  $k_{tot}$  resultan ser numéricamente iguales para este caso ya que la reparación por la vía *SET* no ocurre. Lo anterior indica que la reparación del radical de leucina por antioxidantes de tipo tiofenólico en medio acuoso ocurre por la donación de un átomo de hidrógeno, sin embargo, un análisis mecanístico es requerido para determinar si la donación de  $H^{\bullet}$  se da por la vía *HAT* o *PCET*.

**Tabla 7.** Energía libre de activación y constantes de velocidad en medio lipídico a 298.15 K para la reparación de leucina. Nivel de cálculo M06–2X/6–31++G(d,p).

<b>Especie</b>	$\Delta G^{\ddagger}$ <sup>[a]</sup>	$k^{TST}$ <sup>[b]</sup>	$k_{app}$ <sup>[b]</sup>	$k_{tot}$ <sup>[b]</sup>	$k_{global}$ <sup>[b]</sup>
<b>A</b>	6.80	1.57E+09	9.44E+08	9.44E+08	9.44E+08
<b>B</b>	5.19	2.37E+10	2.22E+09	2.22E+09	2.22E+09
<b>C</b>	5.86	7.66E+09	1.68E+09	1.68E+09	1.68E+09
<b>D</b>	4.86	4.18E+10	1.98E+09	1.98E+09	1.98E+09
<b>E</b>	5.64	1.11E+10	1.68E+09	1.68E+09	1.68E+09
<b>F</b>	7.37	6.03E+08	6.03E+08	6.03E+08	6.03E+08
<b>G</b>	11.23	8.77E+05	8.77E+05	8.77E+05	8.77E+05
<b>H</b>	4.42	8.73E+10	1.96E+09	1.96E+09	1.96E+09
<b>I</b>	8.49	9.04E+07	9.04E+07	9.04E+07	9.04E+07
<b>J</b>	6.06	5.48E+09	1.36E+09	1.36E+09	1.36E+09
<b>K</b>	5.83	8.08E+09	1.41E+09	1.41E+09	1.41E+09
<b>L</b>	6.49	2.64E+09	1.05E+09	1.05E+09	1.05E+09

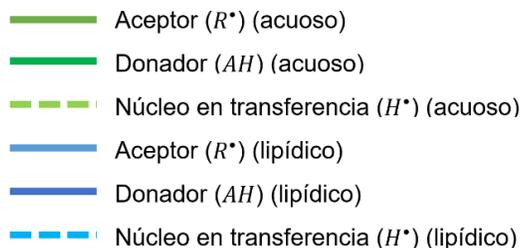
<sup>[a]</sup> en unidades de  $kcal/mol$  y <sup>[b]</sup> en unidades de  $M^{-1}s^{-1}$ .

Por otro lado, los resultados presentados en la *Tabla 7* permiten comprobar que la reparación del radical de leucina por tiofenoles se encuentra favorecida en medio lipídico. Puede observarse que la mayoría de las reacciones están controladas por difusión y dado que en este medio el *pH* no ejerce ninguna influencia sobre la reactividad de las especies involucradas, las  $k_{app}$  y  $k_{tot}$  son iguales numéricamente. Considerando que en medio lipídico las especies iónicas no pueden existir, la reparación por la vía *SET* está descartada, razón por la cual las

$k_{global}$  son numéricamente iguales a las  $k_{tot}$  —sólo tienen la contribución por la vía *FHT*—. Al igual que en medio acuoso, la reparación ocurre a través de la transferencia de un átomo de hidrógeno y por la misma razón que el mecanismo *SET* no se da en medio lipídico, es lógico pensar que el mecanismo *PCET* tampoco ocurrirá en dichas condiciones, de tal forma que el mecanismo *HAT* parece ser la única vía probable de reacción. Con el fin de corroborar, el análisis mecanístico puede encontrarse a continuación.

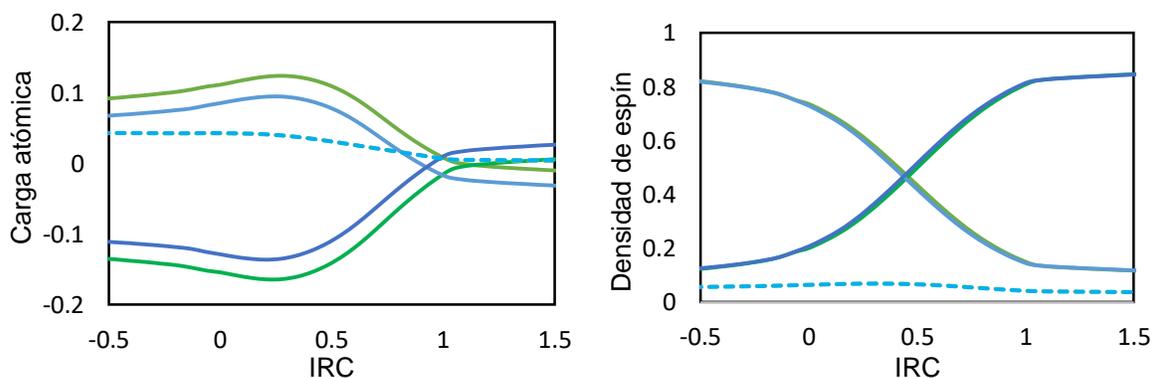
El análisis mecanístico de las reacciones *FHT* tiene como objetivo determinar si el  $H^+$  y el  $e^-$  que conforman al  $H^\bullet$  son transferidos de forma concertada o secuencial y si son transferidos como una sola entidad o independientemente. En la *Sección 2.1.1* se discutieron las diferencias entre los diferentes mecanismos. El presente trabajo se centra en la diferenciación entre mecanismos *FHT* de tipo concertado: *HAT* cuando el  $H^\bullet$  se transfiere como una sola entidad y *PCET* cuando el  $H^+$  y el  $e^-$  se transfieren de forma independiente. Los gráficos de evolución de cargas de Mulliken y de densidades de espín de Hirshfeld con respecto a la *IRC* fueron la herramienta que permitió la diucidación de los mecanismos de reacción.

En las *Figuras 12 a 23* se encuentran los gráficos de evolución de carga y espín sobre el aceptor ( $R^\bullet$ ), el donador ( $AH$ ) y el núcleo en transferencia ( $H^\bullet$ ) con respecto a la *IRC* de las reacciones de reparación entre el radical de leucina (aceptor) y cada una de las 12 especies tiofenólicas (donador). En la *Figura 11* se encuentra el patrón de colores que representa a cada especie involucrada en ambos medios de reacción. Dicho patrón es el mismo para todos los gráficos de evolución de cargas y espín que se presentan a lo largo del presente escrito.



**Figura 11.** Patrón de colores usado en los gráficos de evolución de cargas y espín.

En la *Figura 12* se puede observar el comportamiento esperado para un mecanismo *HAT*. Anteriormente se mencionó que ésta era la vía más probable de reacción para la reparación del radical de leucina, lo cual, se comprueba inequívocamente. Como se espera para un mecanismo *HAT*, la carga sobre el núcleo en transferencia es pequeña ( $< 0.05 e$ ) y decae a lo largo de la *IRC*, lo que es consistente con un  $H^\bullet$ . La inversión en la carga entre el donador y aceptor es el esperado considerando que se trata de un sistema con carga neta neutra. Por otro lado, la densidad de espín sobre el núcleo en transferencia es relativamente grande ( $\sim 5\%$ ) y decae a lo largo de la *IRC*, lo que corresponde a un  $H^\bullet$ . La inversión de densidad de espín entre el donador y el aceptor indica que el  $H^+$  y el  $e^-$  se transfieren de manera simultánea y para este caso, como una sólo especie ( $H^\bullet$ ). El decaimiento tanto de la carga como del espín sobre el núcleo en transferencia en la zona de productos es consistente con la formación de un enlace covalente  $C - H$  en la leucina.



**Figura 12.** Gráfico de evolución de cargas atómicas de Mulliken y de densidad de espín de Hirshfeld para la reacción de reparación entre el radical de leucina y la especie tiofenólica A en medio acuoso (verde) y lipídico (azul).

En este punto es importante aclarar que si la inversión de densidad de espín entre el donador y el aceptor para un mecanismo *HAT* no ocurre en la geometría de *TS*, no significa que exista alguna asincronía en la transferencia del  $H^+$  y el  $e^-$  que conforman a la especie  $H^\bullet$  –como ocurre en el mecanismo *PCET*–. En tales casos,

el cruce debe entenderse como el punto donde ocurre la ruptura del enlace  $S - H$  y formación del enlace  $C - H$ .

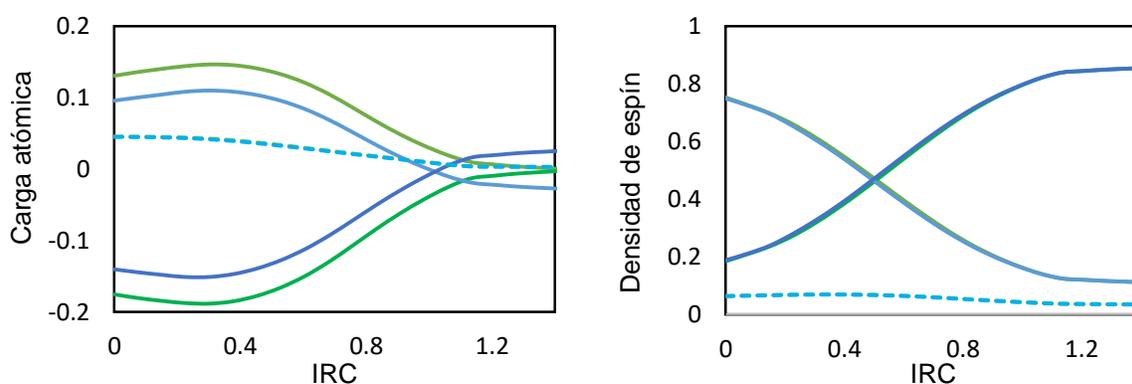
Es importante también hacer notar que el medio de reacción no juega un papel importante sobre el mecanismo de reacción a través del cual ocurre la reparación de la leucina ya que éste no modifica el comportamiento de las cargas o de la densidad de espín. La diferencia más notable es que en medio lipídico la inversión de carga entre el donador y el aceptor ocurre ligeramente antes que en medio acuoso, sin embargo, la vía de reacción sigue siendo la misma.

En las *Figuras* 13 a 23 se puede observar el mismo comportamiento tanto para las cargas como para las densidades de espín. El único caso que salta a la vista por tener un comportamiento ligeramente diferente al resto se puede encontrar en la *Figura* 18, la cual corresponde a la reacción de reparación entre el radical de leucina y la especie  $G$ . En medio acuoso, el grupo carboxilo de la especie  $G$  se encuentra desprotonado a  $pH$  fisiológico, por lo que la carga neta del sistema es  $-1$ . En sistemas con carga neta diferente de cero, no se espera ver una inversión de carga entre el donador y el aceptor. En medio lipídico al encontrarse en su forma neutra, la carga neta del sistema también lo es, por lo tanto, se observa la inversión de carga al igual que en el resto de los sistemas. Sin embargo, la carga neta del sistema no modifica el comportamiento de las densidades de espín, por lo que no se observa una diferencia para este caso.

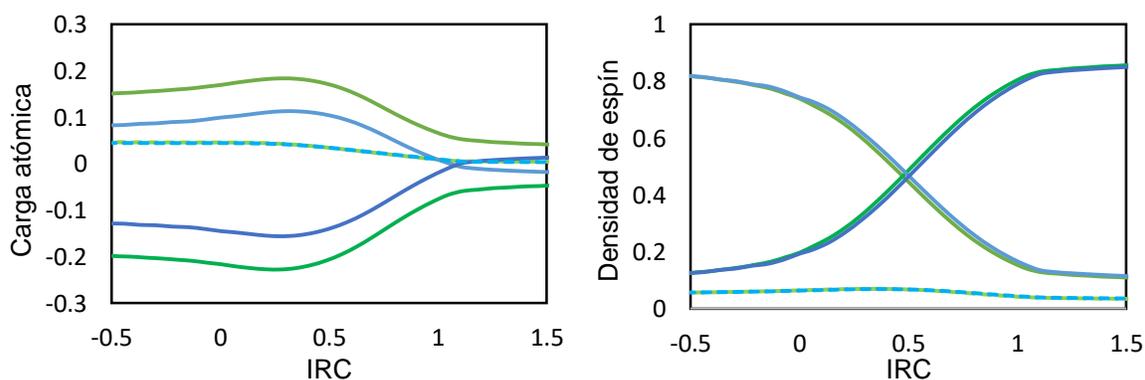
En todos los casos es independientemente del medio de reacción, puede observarse que tanto la carga ( $< 0.05 e$ ) y la densidad de espín ( $\sim 5\%$ ) sobre el núcleo en transferencia, corresponden a un  $H^*$ . Igualmente, para todos los sistemas el cruce no se da en la geometría del  $TS$  sino en la zona de productos.

En todos los casos es independientemente del medio de reacción, puede observarse que tanto la carga ( $< 0.05 e$ ) y la densidad de espín ( $\sim 5\%$ ) sobre el núcleo en transferencia, corresponden a un  $H^*$ . Igualmente, para todos los sistemas el cruce no se da en la geometría del  $TS$  sino en la zona de productos.

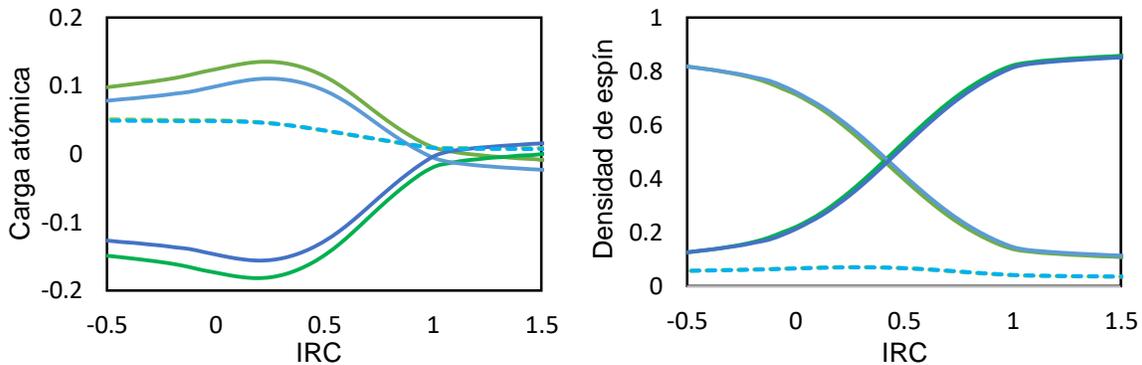
Con base en el análisis de cargas y de densidades de espín, se determinó que todas las reacciones de reparación entre el radical de leucina y las especies tiofenólicas, tanto en medio acuoso como lipídico, se dan exclusivamente por la vía *HAT*. El análisis termodinámico y cinético demostró que los tiofenoles son excelentes antioxidantes secundarios, ya que reparan el daño oxidativo sufrido por la leucina a altas velocidades, a pesar de que a *pH* fisiológico y en medio acuoso puedan llegar a encontrarse en bajas proporciones, p.e. la especie *C*.



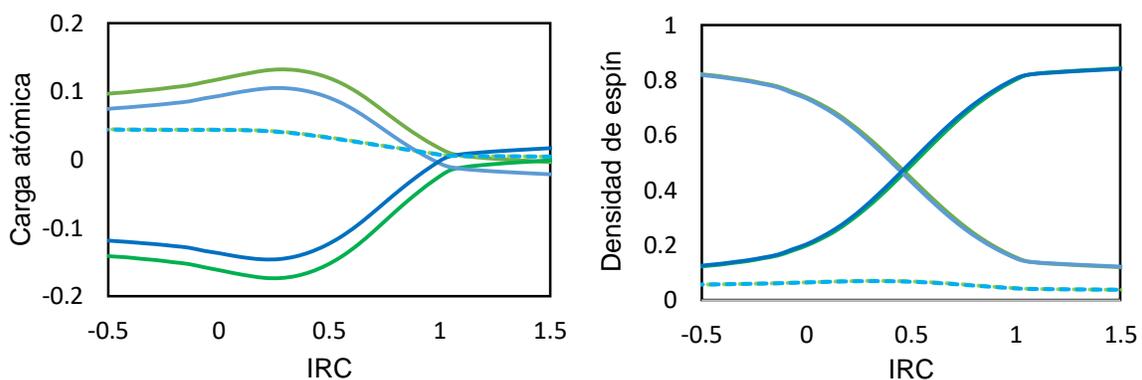
**Figura 13.** Gráfico de evolución de cargas atómicas de Mulliken y de densidad de espín de Hirshfeld para la reacción de reparación entre el radical de leucina y la especie tiofenólica *B* en medio acuoso (verde) y lipídico (azul).



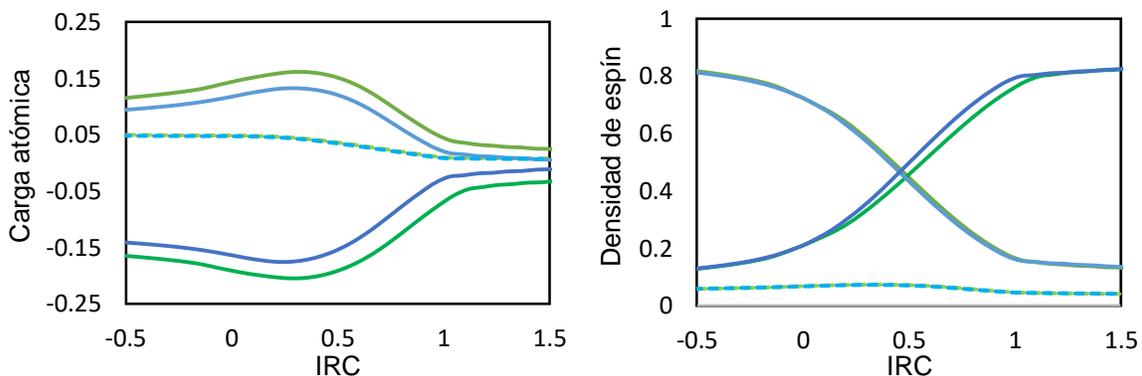
**Figura 14.** Gráfico de evolución de cargas atómicas de Mulliken y de densidad de espín de Hirshfeld para la reacción de reparación entre el radical de leucina y la especie tiofenólica *C* en medio acuoso (verde) y lipídico (azul).



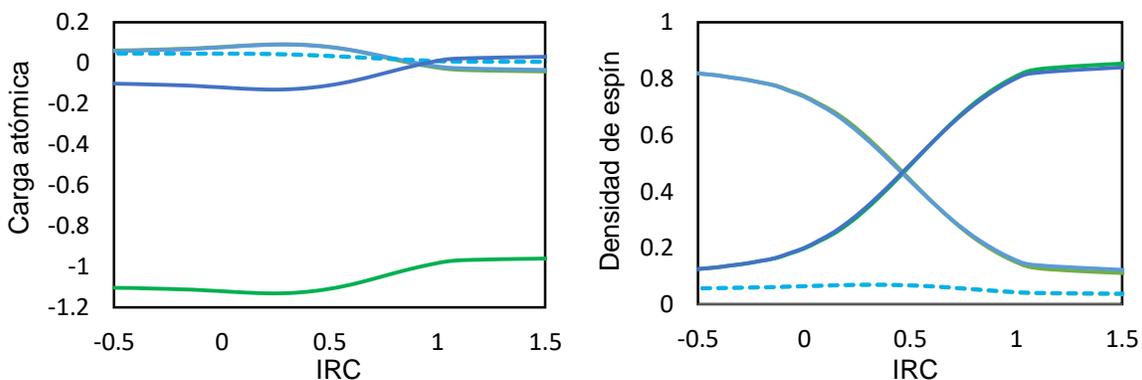
**Figura 15.** Gráfico de evolución de cargas atómicas de Mulliken y de densidad de espín de Hirshfeld para la reacción de reparación entre el radical de leucina y la especie tiofenólica D en medio acuoso (verde) y lipídico (azul).



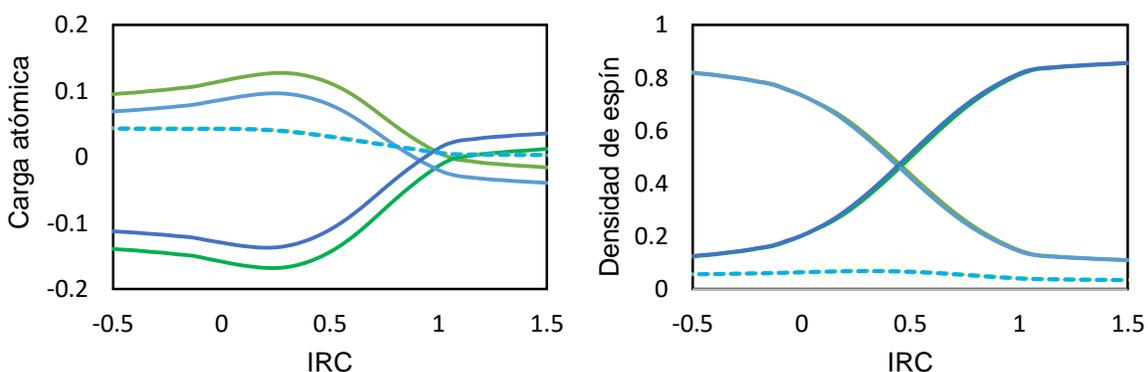
**Figura 16.** Gráfico de evolución de cargas atómicas de Mulliken y de densidad de espín de Hirshfeld para la reacción de reparación entre el radical de leucina y la especie tiofenólica E en medio acuoso (verde) y lipídico (azul).



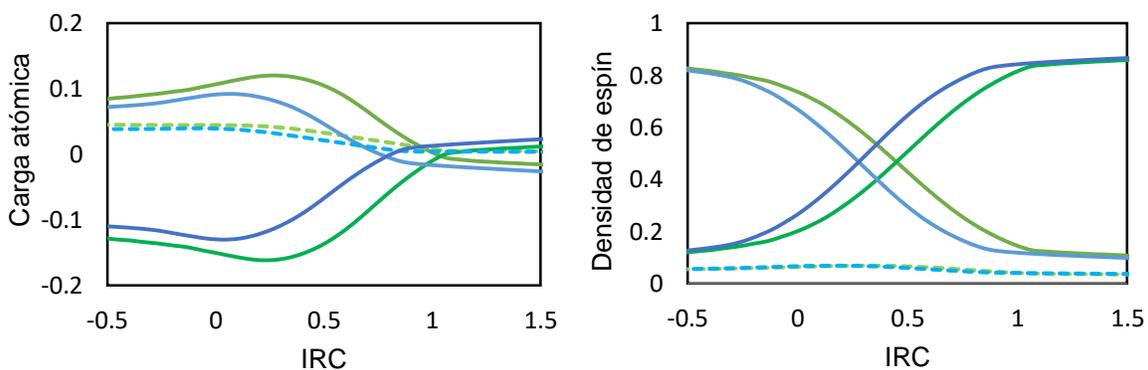
**Figura 17.** Gráfico de evolución de cargas atómicas de Mulliken y de densidad de espín de Hirshfeld para la reacción de reparación entre el radical de leucina y la especie tiofenólica F en medio acuoso (verde) y lipídico (azul).



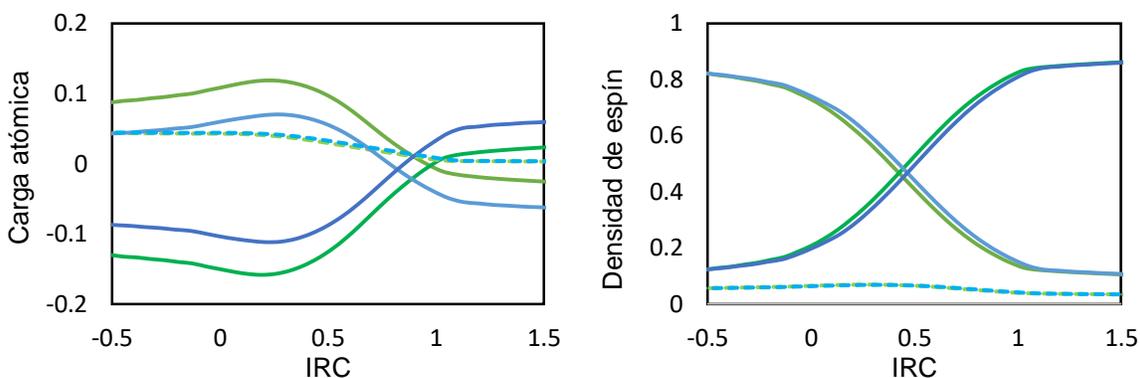
**Figura 18.** Gráfico de evolución de cargas atómicas de Mulliken y de densidad de espín de Hirshfeld para la reacción de reparación entre el radical de leucina y la especie tiofenólica G en medio acuoso (verde) y lipídico (azul).



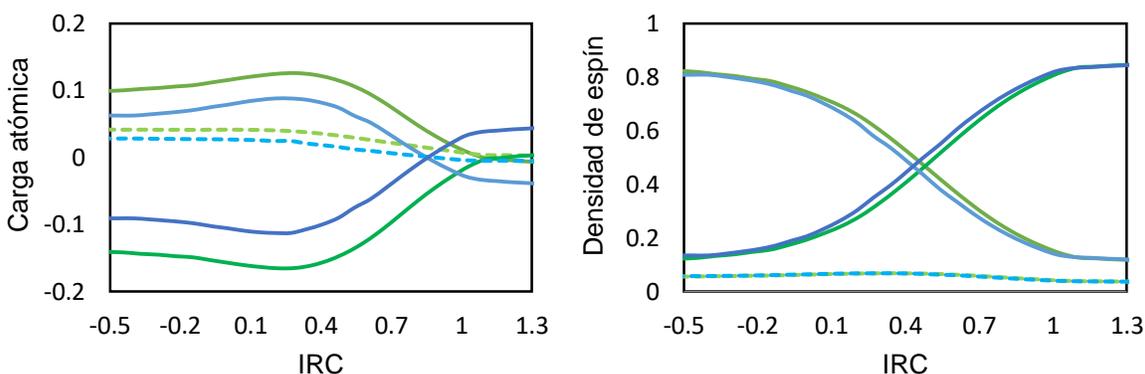
**Figura 19.** Gráfico de evolución de cargas atómicas de Mulliken y de densidad de espín de Hirshfeld para la reacción de reparación entre el radical de leucina y la especie tiofenólica H en medio acuoso (verde) y lipídico (azul).



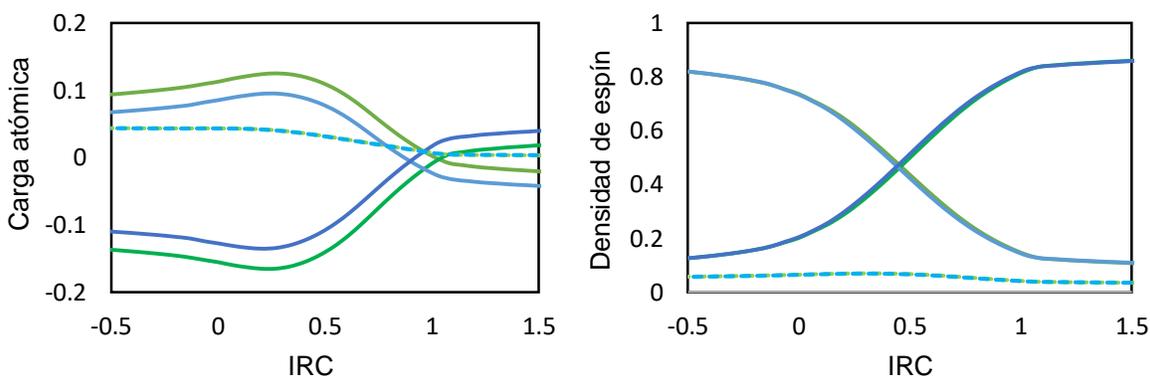
**Figura 20.** Gráfico de evolución de cargas atómicas de Mulliken y de densidad de espín de Hirshfeld para la reacción de reparación entre el radical de leucina y la especie tiofenólica I en medio acuoso (verde) y lipídico (azul).



**Figura 21.** Gráfico de evolución de cargas atómicas de Mulliken y de densidad de espín de Hirshfeld para la reacción de reparación entre el radical de leucina y la especie tiofenólica J en medio acuoso (verde) y lipídico (azul).



**Figura 22.** Gráfico de evolución de cargas atómicas de Mulliken y de densidad de espín de Hirshfeld para la reacción de reparación entre el radical de leucina y la especie tiofenólica K en medio acuoso (verde) y lipídico (azul).



**Figura 23.** Gráfico de evolución de cargas atómicas de Mulliken y de densidad de espín de Hirshfeld para la reacción de reparación entre el radical de leucina y la especie tiofenólica L en medio acuoso (verde) y lipídico (azul).

### 5.3 Reparación de triptófano

En la *Tabla 8* se presentan los valores de energía libre de Gibbs de reacción correspondientes a las reacciones de reparación entre el radical triptofanil y los doce diferentes tiofenoles por ambas vías de reacción tanto en medio acuoso como lipídico. Los datos de viabilidad termodinámica indican cuáles son las reacciones que pueden llegar a ser importantes bajo las condiciones de reacción.

**Tabla 8.** Energía libre de Gibbs de reacción  $\Delta G_{rxn}^{\circ}$ , kcal/mol) a 298.15 K para las reacciones de reparación de triptófano en medio acuoso y lipídico. Nivel de cálculo M06-2X/6-31++G(d,p).

Especie	Acuoso		Lipídico	
	SET	FHT	SET	FHT
<i>A</i>	0.51	-12.68	55.16	-14.93
<i>B</i>	2.37	-15.96	50.72	-19.36
<i>C</i>	3.45	-14.79	53.22	-16.92
<i>D</i>	3.07	-10.11	60.48	-12.26
<i>E</i>	2.35	-12.24	57.20	-14.68
<i>F</i>	15.92	-3.57	69.05	-11.28
<i>G</i>	-6.08	-10.41	58.53	-11.76
<i>H</i>	-0.74	-14.64	46.15	-16.73
<i>I</i>	-2.09	-11.35	47.97	-13.58
<i>J</i>	1.25	-12.61	50.19	-13.90
<i>K</i>	-1.74	-14.16	49.52	-16.21
<i>L</i>	-2.49	-15.86	42.04	-17.19

Como puede observarse, la vía *SET* se encuentra termodinámicamente desfavorecida en ambos medios de reacción. En medio lipídico es de esperarse que las reacciones por dicha vía no se den ya que, como se mencionó anteriormente, las especies iónicas no se estabilizan en medios no polares. Por otro lado, en medio acuoso solamente cinco de las reacciones de reparación resultan ser viables ( $\Delta G_{rxn}^{\circ} < 0$ ) por dicho mecanismo. Si bien existe una ganancia energética por la estabilización del radical triptofanil, en la mayoría de los casos, ésta no compensa la pérdida de estabilidad que sufren las especies reparadoras al donar un electrón.

Salvo para las reacciones entre el radical triptofanil y las especies *G*, *H*, *I*, *K* y *L* en medio acuoso, la reparación vía *SET* no se da.

La reparación del radical triptofanil por la vía *FHT*, por otro lado, ocurre en ambos medios, sin embargo, es necesario mencionar que para las especies *G*, *I* y *K* no ha sido posible localizar el *TS* en ningún medio de reacción, por lo que, no se presentan resultados sobre la cinética de dichas reacciones. El análisis termodinámico sugiere que la reparación con estas especies ocurre a velocidades altas –tentativamente, controladas por difusión– pero sin el *TS* no se puede confirmar. El resto de las reacciones son exergónicas ( $\Delta G_{rxn}^{\circ} < 0$ ) en ambos medios de reacción, lo cual significa que se encuentran termodinámicamente favorecidas.

Una vez que se conoce la viabilidad termodinámica, se procede al análisis cinético. Dicho análisis permite saber cuáles de las especies tiofenólicas bajo estudio son buenas para reparar el daño causado por estrés oxidativo al triptófano. En la *Tabla 9* se encuentran los valores de energía libre de Gibbs de activación y las constantes de velocidad  $k^{TST}$  correspondientes a las reacciones de reparación entre el radical *TrpN\** y las doce diferentes especies antioxidantes en medio acuoso.

**Tabla 9.** Energía libre de activación y constantes de velocidad en medio acuoso a 298.15 K para la reparación de triptófano. Nivel de cálculo M06–2X/6–31++G(d,p).

Especie	<i>SET</i>		<i>FHT</i>	
	$\Delta G^{\ddagger[a]}$	$k^{TST[b]}$	$\Delta G^{\ddagger[a]}$	$k^{TST[b]}$
<i>A</i>	---	---	7.80	2.92E+08
<i>B</i>	---	---	6.32	3.51E+09
<i>C</i>	---	---	6.42	2.99E+09
<i>D</i>	---	---	3.59	3.56E+11
<i>E</i>	---	---	4.07	1.57E+11
<i>F</i>	---	---	8.71	6.31E+07
<i>G</i>	1.04	5.36E+08	---	---
<i>H</i>	2.06	6.02E+07	4.72	5.24E+10
<i>I</i>	2.19	6.81E+07	---	---
<i>J</i>	---	---	5.57	1.26E+10
<i>K</i>	1.23	3.73E+08	---	---
<i>L</i>	1.34	3.30E+08	8.73	6.07E+07

<sup>[a]</sup> en unidades de *kcal/mol* y <sup>[b]</sup> en unidades de  $M^{-1}s^{-1}$ .

Como puede observarse en la *Tabla 9*, las reacciones de reparación en medio acuoso del *TrpN\** ocurren únicamente por la vía *FHT* con las especies *A – F* y *J*, se dan a altas velocidades, siendo la mayoría controladas por difusión. Por otro lado, las reacciones con las especies *G, I* y *K* ocurren a menores velocidades y, al no encontrarse el *TS* para éstas, los valores de las constantes de velocidad son una contribución exclusiva de vía *SET*. Sin embargo, todas las especies resultan ser buenas para reparar el daño sufrido por el triptófano, siendo la vía *FHT* la más favorecida a las condiciones de reacción.

Considerando los efectos de la difusión, las  $k^{TST}$  fueron corregidas dando paso a las  $k_{app}$ . Dado que las reacciones que ocurren vía *SET* no se encuentran controladas por difusión las  $k^{TST}$  son numéricamente iguales a las  $k_{app}$ . Lo mismo ocurre por la vía *FHT* para las reacciones con las especies *A, F* y *J*. En la *Tabla 10* pueden encontrarse los valores de las  $k_{app}$ .

**Tabla 10.** Constantes de velocidad ( $M^{-1}s^{-1}$ ) en medio acuoso a 298.15 K para la reparación de triptófano. Nivel de cálculo M06–2X/6–31++G(d,p).

Especie	SET		FHT		$k_{global}$
	$k_{app}$	$k_{tot}$	$k_{app}$	$k_{tot}$	
<i>A</i>	---	---	2.92E+08	4.11E+07	4.11E+07
<i>B</i>	---	---	9.08E+08	5.59E+06	5.59E+06
<i>C</i>	---	---	8.80E+08	5.81E+06	5.81E+06
<i>D</i>	---	---	1.30E+09	3.80E+08	3.80E+08
<i>E</i>	---	---	1.20E+09	1.39E+08	1.39E+08
<i>F</i>	---	---	6.31E+07	1.30E+05	1.30E+05
<i>G</i>	5.36E+08	4.97E+05	---	---	4.97E+05
<i>H</i>	6.02E+07	4.89E+07	1.09E+09	2.04E+08	2.52E+08
<i>I</i>	6.81E+07	3.77E+06	---	---	3.77E+06
<i>J</i>	---	---	1.02E+09	1.96E+08	1.96E+08
<i>K</i>	3.73E+08	2.10E+08	---	---	2.10E+08
<i>L</i>	3.30E+08	2.43E+08	6.07E+07	1.59E+07	2.59E+08

Recordando que al *pH* de trabajo y en medio acuoso los reactivos se encuentran en diferentes proporciones, las  $k_{app}$  fueron corregidas por las

correspondientes fracciones molares dado lugar a las  $k_{tot}$ . Posteriormente, las  $k_{global}$  se calcularon como la suma de las  $k_{tot}$  por ambas vías de reacción. En la *Tabla 10* se encuentran los valores correspondientes.

Como puede observarse, el no considerar los equilibrios ácido–base existentes a las condiciones de reacción puede provocar una sobreestimación de las constantes de velocidad, lo cual, puede modificar por completo la interpretación del comportamiento de las especies implicadas. Por ejemplo, para la reacción entre el  $TrpN^*$  y la especie  $G$  por la vía  $SET$ , la  $k_{tot}$  se sobreestimaría tres órdenes de magnitud de no considerarse las fracciones molares de ambas especies. En el resto de los casos, el efecto de los equilibrios ácido–base es menor y, para algunas reacciones puede llegar a ser mínima la diferencia entre considerar o no considerar las fracciones molares, sin embargo, en ningún caso ocurre que dichos equilibrios no modifiquen las  $k_{tot}$  en alguna medida, por lo tanto, es importante siempre tenerlos presentes.

Los valores de  $k_{global}$  indican que todas las especies tiofenólicas son buenos antioxidantes secundarios ya que tienen la capacidad de reparar el daño oxidativo sufrido por el triptófano a altas velocidades de reacción en medio acuoso, siendo las especies  $D$ ,  $E$ ,  $H$  y  $J - L$  las mejores y las especies  $F$  y  $G$  las peores.

La reparación de  $TrpN^*$  en medio acuoso por las especies  $A - F$  y  $J$  ocurren exclusivamente por la vía  $FHT$ , sin embargo, las constantes de velocidad no brindan información sobre si el mecanismo de reacción es  $HAT$  o  $PCET$ , por lo que se requiere un análisis de evolución de cargas y de densidad de espín para poder dilucidarlo. Dicho análisis se encuentra más adelante. Considerando que para las especies  $G$ ,  $I$  y  $K$  no fue posible encontrar los  $TS$ , éstas reacciones ocurren únicamente por la vía  $SET$  a velocidades de reacción altas, por lo que esta situación no resta importancia como antioxidantes a dichas especies. Por otro lado, para los casos con las especies  $H$  y  $L$ , las  $k_{global}$  son una contribución de ambas vías de reacción, siendo la vía  $FHT$  la más favorecida para la reacción con la especie  $H$  mientras que para la especie  $L$  es la vía  $SET$ .

En medio lipídico, las reacciones de reparación no se dan vía *SET* por lo que sólo se analiza la vía *FHT*. En la *Tabla 11* se encuentran los valores de energía libre de Gibbs de activación y las constantes de velocidad para las reacciones de reparación entre el *TrpN\** y nueve de los doce diferentes tiofenoles. En este medio tampoco fue posible encontrar los *TS* correspondientes a las reacciones con las especies *G*, *I* y *K*, sin embargo, el análisis termodinámico sugiere que la reparación podría llevarse eficientemente a cabo a velocidades cercanas a la difusión. Dado que el *TS* es necesario para realizar el análisis cinético, no se presentan resultados relacionados a la cinéticas de dichas reacciones.

**Tabla 11.** Energía libre de activación y constantes de velocidad en medio lipídico a 298.15 K para la reparación de triptófano. Nivel de cálculo M06 – 2X / 6–31++G(d,p).

<b>Especie</b>	$\Delta G^{\ddagger}$ <sup>[a]</sup>	$k^{TST}$ <sup>[b]</sup>	$k_{app}$ <sup>[b]</sup>	$k_{tot}$ <sup>[b]</sup>	$k_{global}$ <sup>[b]</sup>
<b>A</b>	10.12	5.76E+06	5.76E+06	5.76E+06	5.76E+06
<b>B</b>	4.75	5.02E+10	2.18E+09	2.18E+09	2.18E+09
<b>C</b>	6.99	1.13E+09	7.27E+08	7.27E+08	7.27E+08
<b>D</b>	3.61	3.45E+11	1.96E+09	1.96E+09	1.96E+09
<b>E</b>	4.73	5.17E+10	1.77E+09	1.77E+09	1.77E+09
<b>F</b>	8.55	8.19E+07	8.19E+07	8.19E+07	8.19E+07
<b>G</b>	---	---	---	---	---
<b>H</b>	7.73	3.26E+08	3.26E+08	3.26E+08	3.26E+08
<b>I</b>	---	---	---	---	---
<b>J</b>	10.71	2.15E+06	2.15E+06	2.15E+06	2.15E+06
<b>K</b>	---	---	---	---	---
<b>L</b>	8.24	1.38E+08	1.38E+08	1.38E+08	1.38E+08

<sup>[a]</sup> en unidades de *kcal/mol* y <sup>[b]</sup> en unidades de  $M^{-1}s^{-1}$ .

Para el resto de las reacciones, las constantes de velocidad son altas e incluso, algunas se encuentran controladas por difusión, por tal motivo, las  $k^{TST}$  se corrigen y dan paso a las  $k_{app}$ . Considerando que en este medio no polar los reactivos no presentan equilibrios ácido–base, las  $k_{app}$ ,  $k_{tot}$  y  $k_{global}$  son numéricamente iguales. En la *Tabla 11* se puede observar que las nueve especies tiofenólicas son excelentes antioxidantes secundarios en medio lipídico ya que

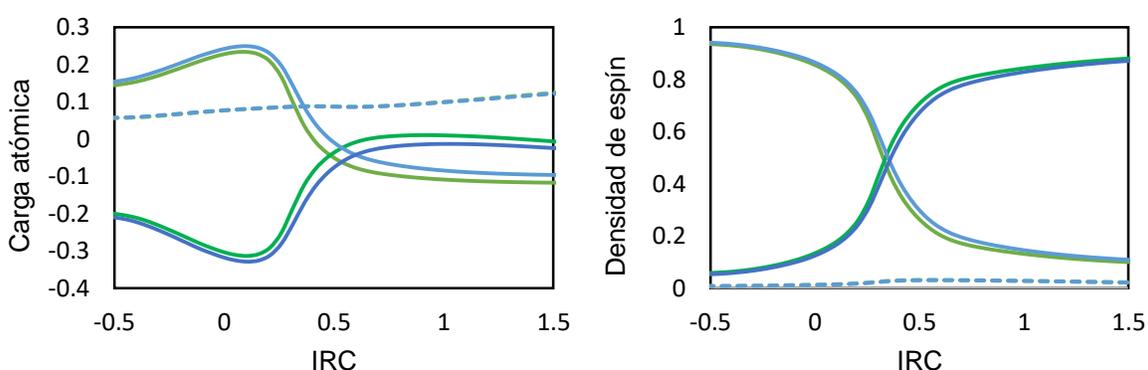
tienen la capacidad de reparar el daño que sufre el triptófano como consecuencia del estrés oxidativo a altas velocidades, siendo las especies *B*, *D* y *E* los mejores antioxidantes.

A diferencia que en el caso de la reparación de leucina, en el que la naturaleza de los reactivos y de los productos generados condicionaba que la reparación ocurriera exclusivamente por el mecanismo *HAT*, la reparación de triptófano no presenta dichas limitaciones ya que cuando la especie  $TrpN^{\bullet}$  recibe un electrón, genera al anión  $TrpN^{-}$ , el cual, puede estabilizarse por resonancia. Lo anterior abre la posibilidad de que la reparación de triptófano ocurra por más de una vía de reacción. El análisis termodinámico y cinético permitió demostrar que la reparación de esta especie ocurre tanto por la vía *SET* como por la *FHT* en medio acuoso y en medio lipídico la única posibilidad es la vía *FHT*. Sin embargo, aún falta determinar si se trata de un mecanismo *HAT* o *PCET*, por lo que se recurre a un análisis de cargas y de densidad de espín. Para este caso, el mecanismo *PCET* es una opción muy probable ya que existen evidencias de que la reparación de  $TrpN^{\bullet}$  con ácido úrico, ácido ascórbico y trolox ocurre por esta vía<sup>113</sup>.

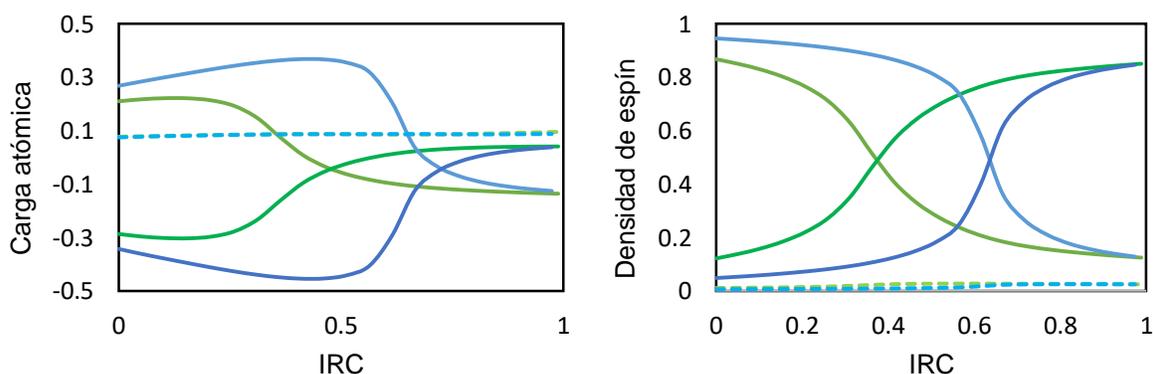
En las *Figuras 24 a 32* se encuentran los gráficos de evolución de carga y espín sobre el aceptor ( $R^{\bullet}$ ), el donador (*AH*) y el núcleo en transferencia ( $H^{\bullet}$ ) con respecto a la *IRC* de las reacciones de reparación entre el radical  $TrpN^{\bullet}$  (aceptor) y cada una de las nueve especies tiofenólicas (donador). Anteriormente se mencionó que en la *Figura 11* se encuentra el patrón de colores que representa a cada especie involucrada en ambos medios de reacción.

En la *Figura 24* se puede observar el comportamiento esperado para un mecanismo *PCET*. Como se espera para un mecanismo de este tipo, la carga sobre el núcleo en transferencia es mayor –en comparación como la que se observó para el mecanismo *HAT*– ya que en este caso se trata de un  $H^+$  y crece a lo largo de la *IRC*. La inversión en la carga entre el donador y aceptor es el esperado considerando que se trata de un sistema con carga neta neutra. Por otro lado, la densidad de espín sobre el núcleo en transferencia es pequeña ( $\sim 0.5\%$ ) y crece a

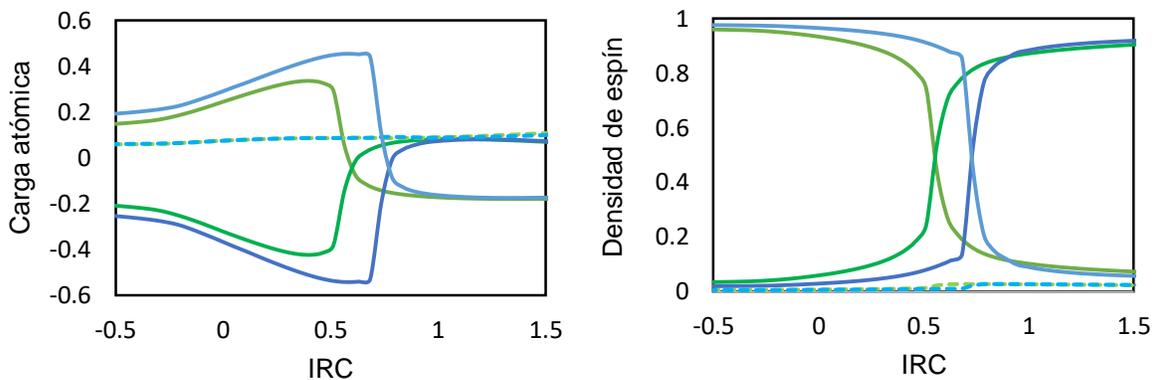
los largo de la *IRC*, lo que corresponde a un  $H^+$ . La inversión de densidad de espín entre el donador y el aceptor indica que el  $H^+$  y el  $e^-$  se transfieren en una sola etapa de reacción pero como especies separadas. Además es interesante notar que la inversión de la densidad de espín entre el donador y el aceptor ocurre después de la geometría del *TS*, es decir, en la zona de productos. Dicha característica se encuentra asociada con la asincronía entre la transferencia del  $H^+$  y el  $e^-$ , lo cual implica que la transferencia se desvía en la dirección *PEST* (Esquema 6).



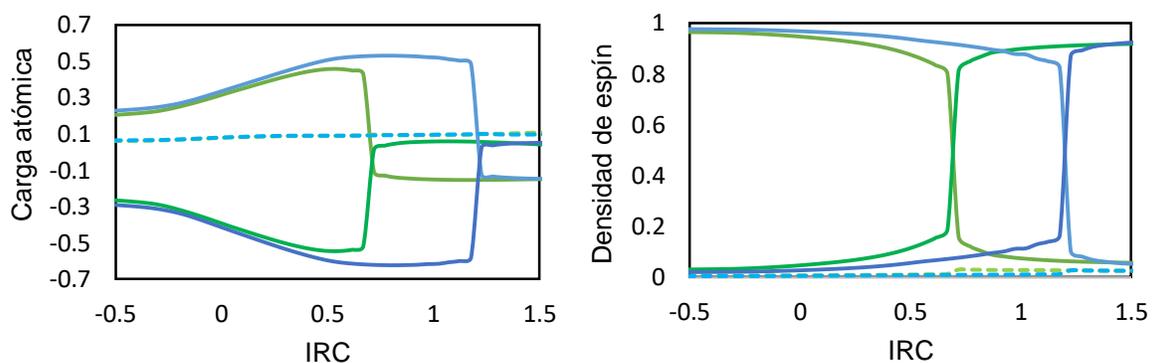
**Figura 24.** Gráfico de evolución de cargas atómicas de Mulliken y de densidad de espín de Hirshfeld para la reacción de reparación entre el radical triptofanil y la especie tiofenólica A en medio acuoso (verde) y lipídico (azul).



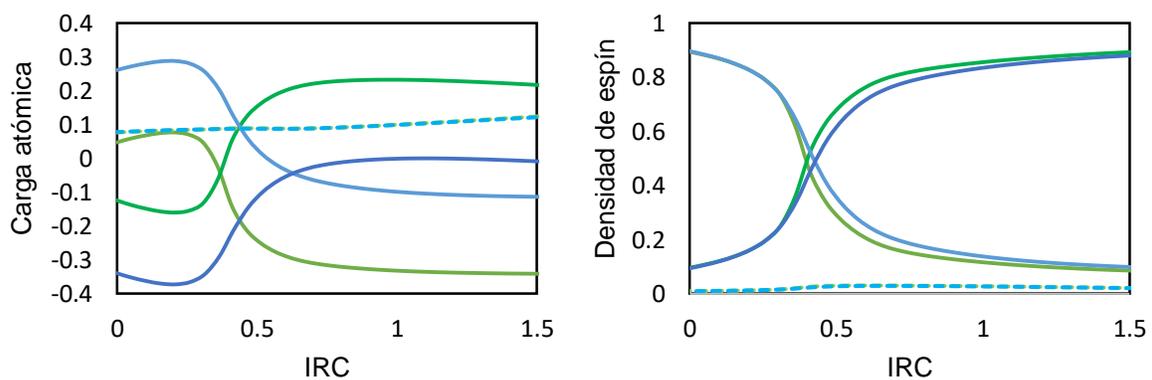
**Figura 25.** Gráfico de evolución de cargas atómicas de Mulliken y de densidad de espín de Hirshfeld para la reacción de reparación entre el radical triptofanil y la especie tiofenólica B en medio acuoso (verde) y lipídico (azul).



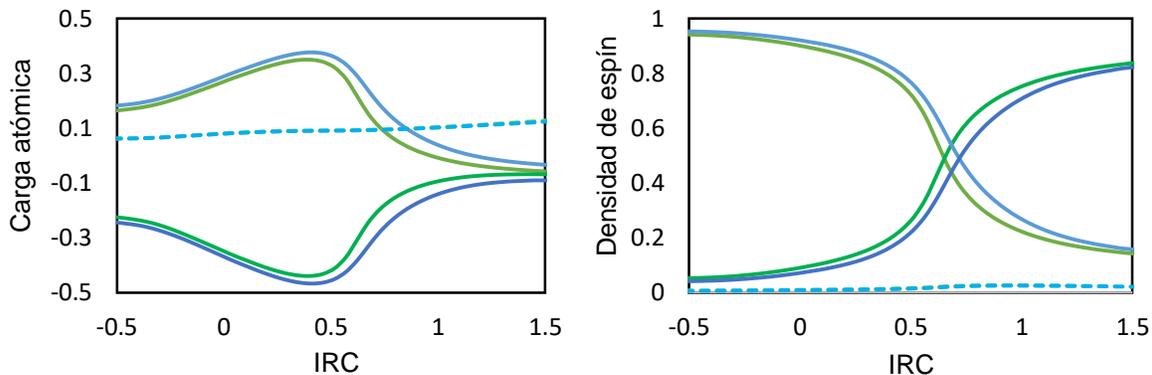
**Figura 26.** Gráfico de evolución de cargas atómicas de Mulliken y de densidad de espín de Hirshfeld para la reacción de reparación entre el radical triptofanil y la especie tiofenólica C en medio acuoso (verde) y lipídico (azul).



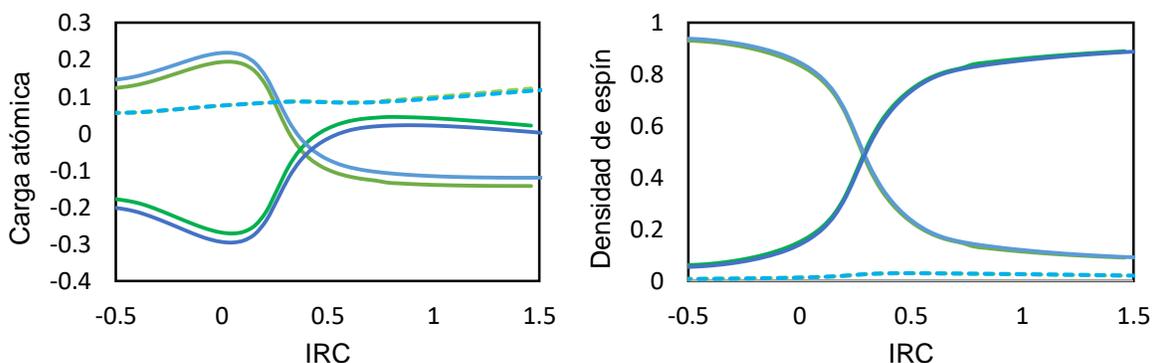
**Figura 27.** Gráfico de evolución de cargas atómicas de Mulliken y de densidad de espín de Hirshfeld para la reacción de reparación entre el radical triptofanil y la especie tiofenólica D en medio acuoso (verde) y lipídico (azul).



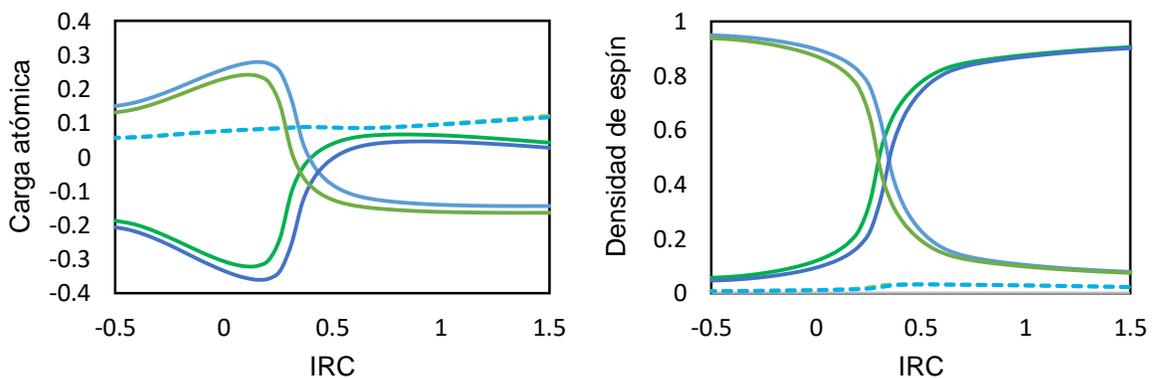
**Figura 28.** Gráfico de evolución de cargas atómicas de Mulliken y de densidad de espín de Hirshfeld para la reacción de reparación entre el radical triptofanil y la especie tiofenólica E en medio acuoso (verde) y lipídico (azul).



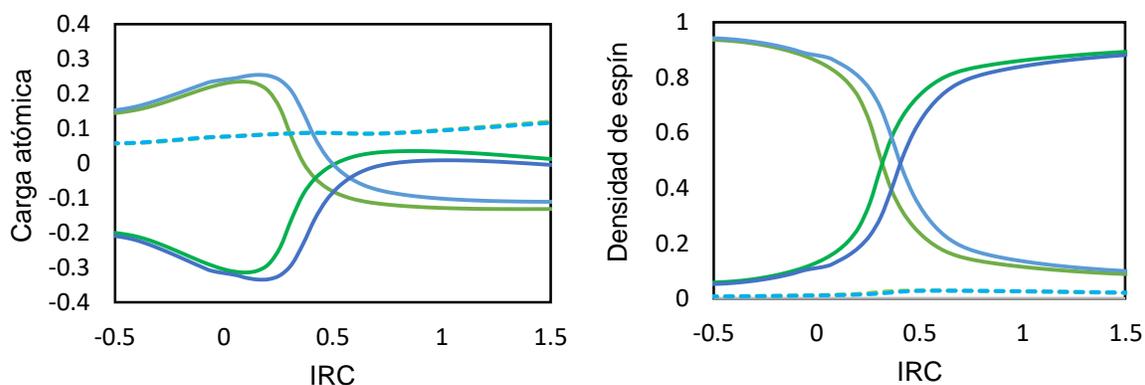
**Figura 29.** Gráfico de evolución de cargas atómicas de Mulliken y de densidad de espín de Hirshfeld para la reacción de reparación entre el radical triptofanil y la especie tifenólica F en medio acuoso (verde) y lipídico (azul).



**Figura 30.** Gráfico de evolución de cargas atómicas de Mulliken y de densidad de espín de Hirshfeld para la reacción de reparación entre el radical triptofanil y la especie tifenólica H en medio acuoso (verde) y lipídico (azul).



**Figura 31.** Gráfico de evolución de cargas atómicas de Mulliken y de densidad de espín de Hirshfeld para la reacción de reparación entre el radical triptofanil y la especie tifenólica J en medio acuoso (verde) y lipídico (azul).



**Figura 32.** Gráfico de evolución de cargas atómicas de Mulliken y de densidad de espín de Hirshfeld para la reacción de reparación entre el radical triptofanil y la especie tiofenólica L en medio acuoso (verde) y lipídico (azul).

Es importante también hacer notar que, al igual que en el caso de la leucina, el medio de reacción no juega un papel importante sobre el mecanismo de reacción a través del cual ocurre la reparación del triptófano ya que éste no modifica el comportamiento de las cargas o de la densidad de espín. La diferencia más notable es que en medio lipídico la inversión de carga y de densidad de espín entre el donador y el aceptor ocurre ligeramente después que en medio acuoso, sin embargo, la vía de reacción sigue siendo la misma.

En las Figuras 25 a 32 se puede observar el mismo comportamiento tanto para las cargas como para las densidades de espín. En todos los casos es independientemente del medio de reacción, puede observarse que tanto la carga ( $> 0.05 e$ ) y la densidad de espín ( $\sim 0.5\%$ ) sobre el núcleo en transferencia, corresponden a un  $H^+$ . Igualmente, para todos los sistemas el cruce no se da en la geometría del  $TS$  sino en la zona de productos.

Con base el análisis termodinámico y cinético se demostró que los tiofenoles son excelentes antioxidantes secundarios ya que reparan el daño oxidativo sufrido por el triptófano a altas velocidades mientras que el análisis de cargas y de densidades de espín permitió determinar los mecanismos que siguen estas reacciones. En medio acuoso, las reacciones de reparación del radical  $TrpN^*$  con

las especies *G*, *I* y *K* se dan exclusivamente por la vía *SET* y con las especies *A – F* y *J* se dan únicamente por la vía *PCET*. Con las especies *H* y *L*, la reparación se da como una combinación de ambas vías. Por otro lado, en medio lipídico las especies *G*, *I* y *K* no son capaces de reparar el daño causado al triptófano. El resto de las especies lo hacen solo por la vía *PCET* en dicho medio.

#### 5.4 Reparación de sistemas peptídicos

En esta sección se analiza la capacidad para reparar péptidos de las especies tiofenólicas. Como modelos peptídicos, se emplean como base a la leucina y al triptófano. Considerando que el sitio de reacción permanece invariante con respecto a los aminoácidos, no se espera que los mecanismos de reacción sean diferentes a los de éstos, por lo tanto, sólo se realiza en análisis termodinámico y cinético con el fin de comprobar que las especies antioxidantes no pierden funcionalidad frente a sistemas más complejos.

En la *Tabla 12* se presentan los valores de energía libre de Gibbs de reacción correspondientes a las reacciones de reparación entre el radical peptídico de la leucina y los doce diferentes tiofenoles por ambas vías de reacción tanto en medio acuoso como lipídico. Los datos de viabilidad termodinámica indican cuáles son las reacciones que pueden llegar a ser importantes bajo las condiciones de reacción.

Como era de esperarse, la reparación del péptido de leucina no se da por la vía *SET* en ninguno de los dos medios de reacción. En la *Tabla 12* puede verse que las reacciones de reparación por esta vía en ambos medios se encuentran sumamente desfavorecidas termodinámicamente, lo cual, sugiere que los productos generados de dichas reacciones son considerablemente más inestables que los reactivos de los cuáles partieron, i. e. se genera un radical que resulta ser menos estable que el radical que se pretendía reparar. Por el contrario, las reacciones de reparación por la vía *FHT* se encuentran favorecidas termodinámicamente. Existen evidencias de que la reparación de leucina y sus derivados, se da selectivamente

por esta vía, en específico, siguiendo el mecanismo  $HAT^{71}$ , lo que ha quedado demostrado.

**Tabla 12.** Energía libre de Gibbs de reacción ( $\Delta G_{rxn}^{\circ}$ , kcal/mol) a 298.15 K para las reacciones de reparación del péptido de leucina en medio acuoso y lipídico. Nivel de cálculo M06–2X/6–31++G(d,p).

Especie	Acuoso		Lipídico	
	SET	FHT	SET	FHT
<i>A</i>	48.73	-15.51	51.98	-15.65
<i>B</i>	50.59	-18.79	51.10	-20.08
<i>C</i>	51.67	-17.62	54.48	-17.65
<i>D</i>	51.29	-12.93	61.74	-12.99
<i>E</i>	50.57	-15.07	58.46	-15.40
<i>F</i>	64.14	-6.39	70.31	-12.00
<i>G</i>	42.14	-13.24	59.79	-12.48
<i>H</i>	47.48	-17.47	47.41	-17.45
<i>I</i>	46.13	-14.17	49.23	-14.30
<i>J</i>	49.47	-15.44	51.44	-14.62
<i>K</i>	46.48	-16.99	50.78	-16.93
<i>L</i>	45.73	-18.69	43.30	-17.92

Para el análisis cinético sólo se tomaron en consideración las reacciones exergónicas ( $\Delta G_{rxn}^{\circ} < 0$ ). En la *Tablas 13 y 14* se encuentran los valores de energías libres de Gibbs de activación y las constantes de velocidad en medio acuoso y lipídico, respectivamente, para las reacciones de reparación entre el péptido de leucina y los tiofenoles.

En la *Tabla 13* puede observarse que la reacción con el mayor valor de  $\Delta G^{\ddagger}$  corresponde a la que ocurre con la especie *I*, la cual, también corresponde a la reacción que se da a menor velocidad, siendo esta especie la menos eficiente para reparar el daño oxidativo causado al péptido de leucina en medio acuoso. Sin embargo, ésta y el resto de las especies tiofenólicas resultan ser buenos antioxidantes secundarios ya que tienen la capacidad de reparar a altas velocidades ( $k_{global} > 10^5 M^{-1}s^{-1}$ ). Considerando que algunas de las reacciones resultaron estar controladas por difusión, las  $k^{TST}$  fueron corregidas. Posteriormente,

recordando el efecto del  $pH$  en medio acuoso, las constantes se corrigieron únicamente por las fracciones molares de las especies tiofenólicas ya que son las que presentan equilibrios ácido–base a las condiciones de reacción. Finalmente, las  $k_{tot}$  y  $k_{global}$  resultan ser numéricamente iguales ya que la única vía de reacción es la  $FHT$ .

**Tabla 13.** Energía libre de activación y constantes de velocidad en medio acuoso a 298.15 K para la reparación del péptido de leucina. Nivel de cálculo M06–2X/6–31++G(d,p).

<b>Especie</b>	$\Delta G^{\ddagger[a]}$	$k^{TST[b]}$	$k_{app}^{[b]}$	$k_{tot}^{[b]}$	$k_{global}^{[b]}$
<b>A</b>	6.21	4.26E+09	1.07E+09	1.51E+08	1.51E+08
<b>B</b>	5.09	2.80E+10	1.27E+09	7.83E+06	7.83E+06
<b>C</b>	5.42	1.61E+10	1.23E+09	8.16E+06	8.16E+06
<b>D</b>	5.89	7.33E+09	1.16E+09	3.41E+08	3.41E+08
<b>E</b>	4.95	3.55E+10	1.27E+09	1.47E+08	1.47E+08
<b>F</b>	8.20	1.49E+08	1.49E+08	3.07E+05	3.07E+05
<b>G</b>	7.27	7.17E+08	7.17E+08	7.16E+08	7.16E+08
<b>H</b>	5.86	7.71E+09	1.05E+09	1.96E+08	1.96E+08
<b>I</b>	12.19	2.61E+05	2.61E+05	2.46E+05	2.46E+05
<b>J</b>	6.63	2.09E+09	7.61E+08	1.47E+08	1.47E+08
<b>K</b>	6.42	3.00E+09	8.04E+08	3.50E+08	3.50E+08
<b>L</b>	7.23	7.65E+08	7.65E+08	2.01E+08	2.01E+08

<sup>[a]</sup> en unidades de  $kcal/mol$  y <sup>[b]</sup> en unidades de  $M^{-1}s^{-1}$ .

En la *Tabla 14* se puede ver que las  $\Delta G^{\ddagger}$  correspondientes a las reacciones de reparación del péptido de leucina en medio lipídico son mayores en comparación al medio acuoso, sin embargo, todas las reacciones se dan a altas velocidades, siendo la que ocurre con la especie *G* la menos favorecida. Considerando que ninguna de las reacciones se encuentra controlada por difusión, que en el medio de reacciones todos los reactivos se encuentran en su forma neutra y que todas las reacciones ocurren únicamente por la vía  $FHT$ , es que las  $k^{TST}$ ,  $k_{app}$ ,  $k_{tot}$  y  $k_{global}$  son numéricamente iguales.

**Tabla 14.** Energía libre de activación y constantes de velocidad en medio lipídico a 298.15 K para la reparación del péptido de leucina. Nivel de cálculo M06–2X/6–31++G(d,p).

<b>Especie</b>	$\Delta G^{\ddagger[a]}$	$k^{TST[b]}$	$k_{app}^{[b]}$	$k_{tot}^{[b]}$	$k_{global}^{[b]}$
<b>A</b>	9.58	1.45E+07	1.45E+07	1.45E+07	1.45E+07
<b>B</b>	11.11	1.10E+06	1.10E+06	1.10E+06	1.10E+06
<b>C</b>	7.39	5.83E+08	5.83E+08	5.83E+08	5.83E+08
<b>D</b>	7.85	2.66E+08	2.66E+08	2.66E+08	2.66E+08
<b>E</b>	7.82	2.81E+08	2.81E+08	2.81E+08	2.81E+08
<b>F</b>	10.45	3.31E+06	3.31E+06	3.31E+06	3.31E+06
<b>G</b>	12.95	8.60E+04	8.60E+04	8.60E+04	8.60E+04
<b>H</b>	11.94	2.67E+05	2.67E+05	2.67E+05	2.67E+05
<b>I</b>	11.85	4.98E+05	4.98E+05	4.98E+05	4.98E+05
<b>J</b>	12.46	9.40E+04	9.40E+04	9.40E+04	9.40E+04
<b>K</b>	12.16	2.31E+05	2.31E+05	2.31E+05	2.31E+05
<b>L</b>	11.56	5.13E+05	5.13E+05	5.13E+05	5.13E+05

<sup>[a]</sup> en unidades de kcal/mol y <sup>[b]</sup> en unidades de  $M^{-1}s^{-1}$ .

Por otro lado, la reparación del péptido de triptófano sigue un comportamiento similar al del aminoácido libre. En la *Tabla 15* se encuentran los valores de energía libre de Gibbs de reacción en medio acuoso y lipídico correspondientes a las reacciones de reparación entre el péptido de triptófano y los tiofenoles.

Como puede observarse, la vía *SET* se encuentra termodinámicamente desfavorecida. En medio acuoso las únicas reacciones de reparación viables son las que ocurren con las especies *A*, *G – I*, *K* y *L*, mientras que en medio lipídico ninguna reacción es viable. La vía *FHT*, por otro lado, se encuentra favorecida termodinámicamente en ambos medios, sin embargo, para las reacciones con las especies *G*, *I* y *K*, los *TS* no fueron encontrados en ninguno de los medios de reacción, por lo que no se incluyen datos cinéticos referentes a dichas reacciones. Si bien el análisis termodinámico sugiere que estas reacciones podrían ocurrir, no es posible corroborarlo.

Una vez identificadas las reacciones exergónicas, el análisis cinético permitió demostrar que las especies tiofenólicas son buenos antioxidantes secundarios en ambos medios de reacción. En las *Tablas 16 – 18* se pueden encontrar los valores

de energías libres de Gibbs de activación y las correspondientes constantes de velocidad.

**Tabla 15.** Energía libre de Gibbs de reacción ( $\Delta G_{rxn}^{\circ}$ , kcal/mol) a 298.15 K para las reacciones de reparación del péptido de triptófano en medio acuoso y lipídico. Nivel de cálculo M06–2X/6–31++G(d,p).

Especie	Acuoso		Lipídico	
	SET	FHT	SET	FHT
<i>A</i>	-0.54	-13.89	52.09	-14.52
<i>B</i>	1.32	-17.17	47.65	-18.95
<i>C</i>	2.40	-16.00	50.15	-16.52
<i>D</i>	2.03	-11.32	57.42	-11.86
<i>E</i>	1.30	-13.45	54.13	-14.27
<i>F</i>	14.88	-4.78	65.99	-10.87
<i>G</i>	-7.13	-11.63	55.47	-11.35
<i>H</i>	-1.79	-15.86	43.08	-16.32
<i>I</i>	-3.14	-12.56	44.90	-13.17
<i>J</i>	0.20	-13.83	47.12	-13.49
<i>K</i>	-2.79	-15.38	46.45	-15.80
<i>L</i>	-3.54	-17.07	38.97	-16.79

En la *Tabla 16* se puede ver que aquellas reacciones que no ocurren en medio acuoso por la vía *SET*, lo hacen por la vía *FHT* y viceversa. Sólo la reparación del péptido de triptófano por las especies *A*, *H* y *L*, ocurre por una combinación de mecanismos. Considerando que la mayoría de las reacciones se encuentran controladas por difusión, las  $k^{TST}$  fueron corregidas.

Una vez corregidas las constantes de velocidad por efectos de la difusión  $k_{app}$ , éstas fueron corregidas por las fracciones molares de los reactivos presentes a las condiciones de reacción. Para este caso, tanto el péptido de triptófano como los tiofenoles presentan equilibrios ácido–base en medio acuoso por lo que es necesario considerar dicho comportamiento dentro del cálculo de las constantes ya que de no hacerlo, los resultados obtenidos no estarían representando de manera adecuada a los sistemas en cuestión. Una vez que se obtienen por ambas vías de reacción en medio acuoso las  $k_{tot}$ , se pueden calcular las  $k_{global}$  como la suma de

éstas. Sin embargo, como para las especies *B – F* y *J* la reparación no se da por la vía *SET*, entonces las  $k_{tot}$  (por la vía *FHT*) y las  $k_{global}$  son numéricamente iguales ya que para estos casos, esta vía es la única posible. Para las especies *G, I* y *K* no es posible calcular las constantes de velocidad por la vía *FHT* ya que no se encuentra el *TS*, por lo que las  $k_{global}$  son una contribución exclusiva de la vía *SET*. Para las especies *A, H* y *L*, las  $k_{global}$  se obtienen como la suma de ambas vías, siendo la *SET* la que más contribuye. Todas las especies tiofenólicas resultan ser buenos antioxidantes secundarios en medio acuoso ya que reparan el péptido de triptófano a altas velocidades, siendo la especie *F* la que reparara a menor velocidad. En la *Tabla 17* se encuentran todos los valores de las constantes en medio acuoso para las reacciones de reparación del péptido de triptófano.

**Tabla 16.** Energía libre de activación y constantes de velocidad en medio acuoso a 298.15 K para la reparación del péptido de triptófano. Nivel de cálculo M06–2X/6–31++G(d,p).

Especie	SET		FHT	
	$\Delta G^{o\ddagger[a]}$	$k^{TST[b]}$	$\Delta G^{o\ddagger[a]}$	$k^{TST[b]}$
<i>A</i>	1.17	8.56E+11	7.03	1.07E+09
<i>B</i>	---	---	5.41	1.64E+10
<i>C</i>	---	---	4.83	4.41E+10
<i>D</i>	---	---	3.37	5.10E+11
<i>E</i>	---	---	3.38	5.04E+11
<i>F</i>	---	---	7.64	3.82E+08
<i>G</i>	0.45	2.91E+12	---	---
<i>H</i>	1.16	8.81E+11	4.91	3.85E+10
<i>I</i>	1.34	6.49E+11	---	---
<i>J</i>	---	---	3.03	9.16E+11
<i>K</i>	0.46	2.85E+12	---	---
<i>L</i>	0.59	2.29E+12	7.91	2.40E+08

<sup>[a]</sup> en unidades de kcal/mol y <sup>[b]</sup> en unidades de  $M^{-1}s^{-1}$ .

En medio lipídico la reparación del péptido de triptófano por la vía *SET* se encuentra desfavorecida termodinámicamente por lo que la vía *FHT* resulta ser la única posible. En la *Tabla 18* se encuentran los valores de las energías libres de

Gibbs de activación y las constantes de velocidad para las reacciones de reparación del péptido de triptófano en medio lipídico. Como puede observarse, con excepción de las reacciones con las especies *G*, *I* y *K*, cuyos *TS* no han sido localizados, todas las reacciones se encuentran cinéticamente favorecidas. Para las reacciones que se encuentran controladas por difusión las  $k^{TST}$  fueron corregidas. Considerando que en este medio de reacción los reactivos se encuentran en su forma neutra y que la única vía de reacción es la *FHT*, es que las  $k_{app}$ ,  $k_{tot}$  y  $k_{global}$  son numéricamente iguales. Las especies tiofenólicas son buenos antioxidantes secundarios en medio lipídico ya que tienen la capacidad de reparar el daño oxidativo causado al péptido de triptófano a altas velocidades ( $k_{global} > 10^6 M^{-1}s^{-1}$ ).

**Tabla 17.** Constantes de velocidad ( $M^{-1} s^{-1}$ ) en medio acuoso a 298.15 K para la reparación del péptido de triptófano. Nivel de cálculo M06–2X/6–31++G(d,p).

Especie	SET		FHT		$k_{global}$
	$k_{app}$	$k_{tot}$	$k_{app}$	$k_{tot}$	
<i>A</i>	3.98E+09	3.41E+09	5.92E+08	8.32E+07	3.49E+09
<i>B</i>	---	---	1.14E+09	7.02E+06	7.02E+06
<i>C</i>	---	---	1.21E+09	8.02E+06	8.02E+06
<i>D</i>	---	---	1.30E+09	3.80E+08	3.80E+08
<i>E</i>	---	---	1.21E+09	1.40E+08	1.40E+08
<i>F</i>	---	---	3.82E+08	7.86E+05	7.86E+05
<i>G</i>	3.91E+09	3.63E+06	---	---	3.63E+06
<i>H</i>	3.81E+09	3.09E+09	1.08E+09	2.02E+08	3.29E+09
<i>I</i>	3.68E+09	2.04E+08	---	---	2.04E+08
<i>J</i>	---	---	1.13E+09	2.17E+08	2.17E+08
<i>K</i>	3.66E+09	2.06E+09	---	---	2.06E+09
<i>L</i>	3.66E+09	2.69E+09	2.40E+08	6.28E+07	2.76E+09

Con base en el análisis termodinámico y cinético, no se espera que las reacciones de reparación del péptido de triptófano sigan un mecanismo diferente al presentado por el aminoácido libre, razón por la cual, el análisis de cargas y de densidad de espín no se llevó a cabo. Por lo tanto, para las reacciones en las que

la reparación se da por la donación de un átomo de hidrógeno, esta especie se transfiere del donador al aceptor a través del mecanismo *PCET*.

**Tabla 18.** *Energía libre de activación y constantes de velocidad en medio lipídico a 298.15 K para la reparación del péptido de triptófano. Nivel de cálculo M06–2X/6–31++G(d,p).*

<b>Especie</b>	$\Delta G^{\ddagger[a]}$	$k^{TST[b]}$	$k_{app}^{[b]}$	$k_{tot}^{[b]}$	$k_{global}^{[b]}$
<b>A</b>	10.01	6.94E+06	6.94E+06	6.94E+06	6.94E+06
<b>B</b>	8.55	8.19E+07	8.19E+07	8.19E+07	8.19E+07
<b>C</b>	4.97	3.44E+10	1.91E+09	1.91E+09	1.91E+09
<b>D</b>	2.42	2.55E+12	1.96E+09	1.96E+09	1.96E+09
<b>E</b>	8.29	1.27E+08	1.27E+08	1.27E+08	1.27E+08
<b>F</b>	9.03	3.65E+07	3.65E+07	3.65E+07	3.65E+07
<b>G</b>	---	---	---	---	---
<b>H</b>	7.46	5.14E+08	5.14E+08	5.14E+08	5.14E+08
<b>I</b>	---	---	---	---	---
<b>J</b>	12.34	1.01E+07	1.01E+07	1.01E+07	1.01E+07
<b>K</b>	---	---	---	---	---
<b>L</b>	9.61	1.37E+07	1.37E+07	1.37E+07	1.37E+07

<sup>[a]</sup> en unidades de *kcal/mol* y <sup>[b]</sup> en unidades de  $M^{-1}s^{-1}$ .

El análisis termodinámico, cinético y mecanístico de las reacciones de reparación tanto de los aminoácidos libres como de los péptidos correspondientes por las especies tiofenólicas ha demostrado en general que dichas especies son excelentes antioxidantes secundarios en ambos medios de reacción.

## 5.5 Actividad pro–oxidante

Recordando que en medio acuoso y a *pH* fisiológico los tiofenoles se encuentran desprotonados en diferentes proporciones y que sólo se conocen los valores experimentales de  $pK_a$  para las especies *A* y *F*, es necesario volver a calcular estos valores ya que el nivel de teoría para llevar a cabo el estudio de la actividad pro–oxidante, es diferente al empleado para estudiar la actividad antioxidante. Los valores de  $pK_a$  se calculan teóricamente empleando el método

de parámetros ajustados como indica la *Ecuación (32)*<sup>141</sup>. Dichos valores se obtuvieron como un promedio de los valores calculados empleando los parámetros  $m$  y  $C_0$  para los niveles de teoría  $LC-\omega PBE/6-311++G(d,p)$  y  $LC-\omega PBE/6-31+G(d)$  ya que para el nivel de teoría  $LC-\omega PBE/6-31++G(d,p)$  –que es el nivel empleado en el presente estudio– no se encuentran parametrizados.

En la *Tabla 19* se encuentran los valores de  $pK_a$  calculados usando los parámetros para los niveles de teoría  $LC-\omega PBE/6-311++G(d,p)$  y  $LC-\omega PBE/6-31+G(d)$ . El promedio de dichos valores se tomó como el  $pK_a$  de las especies tioenólicas y con base a éstos se calcularon las fracciones molares y se corrigieron las constantes de velocidad.

**Tabla 19.** Energía libre de Gibbs de reacción a 298.15 K y  $pK_a$ 's. Nivel de cálculo  $LC-\omega PBE/6-31++G(d,p)$ .

Especie	$\Delta G_{rxn}^\circ$ kcal/mol	$pK_a$		
		$6-311++G(d,p)^{[a]}$	$6-31+G(d)^{[b]}$	$6-31++G(d,p)^{[c]}$
<b>A</b>	289.066	6.714	7.442	7.078
<b>B</b>	282.920	4.372	5.119	4.746
<b>C</b>	284.787	5.084	5.824	5.454
<b>D</b>	288.236	6.398	7.128	6.763
<b>E</b>	287.553	6.138	6.870	6.504
<b>F</b>	283.283	4.511	5.256	4.883
<b>G</b>	297.428	9.900	10.603	10.252
<b>H</b>	287.905	6.272	7.003	6.638
<b>I</b>	294.157	8.654	9.366	9.010
<b>J</b>	288.665	6.561	7.290	6.926
<b>K</b>	290.349	7.203	7.927	7.565
<b>L</b>	288.282	6.416	7.146	6.781

<sup>[a]</sup>  $m = 0.381$  y  $C_0 = -103.420$ , <sup>[b]</sup>  $m = 0.378$  y  $C_0 = -101.825$ <sup>141</sup> y <sup>[c]</sup> promedio de valores de  $pK_a$  entre <sup>[a]</sup> y <sup>[b]</sup>.

Comparando los valores de  $pK_a$  experimentales de las especies **A** y **F** (6.615 y 4.715, respectivamente<sup>141</sup>) con los valores obtenidos en la *Tabla 19*, se puede observar que de nueva cuenta, la aproximación hecha para obtener dichos valores brinda resultados confiables ya que la diferencia entre el valor experimental y el valor calculado es de 0.463 y 0.168 unidades de  $pK_a$ , respectivamente, de tal forma

que los valores calculados siguen estando por debajo del error máximo aceptable (2 unidades de  $pK_a$ ).

En la *Tabla 20* se pueden encontrar los valores de las constantes de acidez y las respectivas fracciones molares calculadas a condiciones fisiológicas a partir de los valores de  $pK_a$  obtenidos en la *Tabla 19*. Para las especies cuyos valores de  $pK_a$  se conocen experimentalmente (*A, F*), se tomaron dichos valores y no los calculados. Una vez conocidos los valores de  $pK_a$  y de las fracciones molares, se procedió a realizar el análisis de viabilidad termodinámica y de cinética. En las *Tablas 21* y *22* se encuentran los valores de energía libres de Gibbs de reacción, de activación y las constantes de velocidad.

**Tabla 20.** Constantes de acidez y fracciones molares a  $pH = 7.4$  y  $298.15\text{ K}$  en medio acuoso. Nivel de cálculo LC- $\omega$ PBE/6-31++G(d,p).

Especie	$pK_a$	$K_a$	$\alpha_{neutro}$	$\alpha_{aniónico}$
<i>A</i>	6.615	2.43E-07	0.141	0.859
<i>B</i>	4.746	1.80E-05	0.002	0.998
<i>C</i>	5.454	3.52E-06	0.011	0.989
<i>D</i>	6.763	1.73E-07	0.187	0.813
<i>E</i>	6.504	3.14E-07	0.113	0.887
<i>F</i>	4.715	1.93E-05	0.002	0.998
<i>G</i>	10.252	5.60E-11	0.999	0.001
<i>H</i>	6.638	2.30E-07	0.147	0.853
<i>I</i>	9.010	9.77E-10	0.976	0.024
<i>J</i>	6.926	1.19E-07	0.251	0.749
<i>K</i>	7.565	2.72E-08	0.594	0.406
<i>L</i>	6.781	1.66E-07	0.194	0.806

Es necesario recordar que la actividad pro-oxidante se estudió a través de la reacción de reducción de  $Cu(II)$  a  $Cu(I)$ . Considerando que este proceso implica una transferencia electrónica (reacción tipo óxido-reducción) entre el aceptor  $-Cu(II)$ , el oxidante- y el donador -tiofenoles, los reductores-, la única vía posible de reacción es *SET*. Las reacciones se llevan a cabo exclusivamente en medio acuoso ya que, como ha quedado demostrado, la transferencia electrónica no es viable en medios no polares.

Los valores de  $\Delta G_{rxn}^{\circ}$  que se encuentran en la *Tabla 21* indican que todas las reacciones de reducción de *Cu(II)* son exergónicas y con base en los valores de  $\Delta G^{\ddagger}$ , cinéticamente también se encuentran favorecidas.

**Tabla 21.** Energía libre de Gibbs de reacción ( $\Delta G_{rxn}^{\circ}$ ) y de activación ( $\Delta G^{\ddagger}$ ) en kcal/mol a 298.15 K para las reacciones de reducción de *Cu(II)* en medio acuoso. Nivel de cálculo LC- $\omega$ PBE/6-31++G(d,p).

Especie	$\Delta G_{rxn}^{\circ}$	$\Delta G^{\ddagger}$
<i>A</i>	-13.26	2.80
<i>B</i>	-10.14	4.50
<i>C</i>	-9.39	4.59
<i>D</i>	-5.23	4.58
<i>E</i>	-11.36	3.63
<i>F</i>	-4.85	7.46
<i>G</i>	-19.26	2.47
<i>H</i>	-12.40	2.85
<i>I</i>	-16.41	3.20
<i>J</i>	-12.53	2.95
<i>K</i>	-15.50	2.20
<i>L</i>	-13.91	2.86

En la *Tabla 22* se puede corroborar que en efecto todas las reacciones se encuentran cinéticamente favorecidas. De hecho, con excepción de la reacción entre *Cu(II)* y la especie 10*F*, todas las reacciones están controladas por difusión, por lo que es necesario corregir las constantes. Posteriormente, recordando que los tiofenoles presentan equilibrios ácido–base en medio acuoso, las constantes también fueron corregidas por las correspondientes fracciones molares a *pH* fisiológico. Finalmente, considerando que las reacciones ocurren exclusivamente por la vía *SET*, las  $k_{tot}$  y las  $k_{global}$  son numéricamente iguales.

Como se ha podido demostrar, las especies tiofenólicas son muy buenos reductores, siendo la especie *G* el peor reductor. Esto implica que los tiofenoles presentan una actividad dual, es decir, pueden actuar tanto como antioxidantes o como pro–oxidantes. Anteriormente se demostró que son buenos antioxidantes

primarios<sup>8</sup> y a lo largo del presente trabajo, se ha demostrado que también son excelentes antioxidantes secundarios, sin embargo, a condiciones fisiológicas y en presencia de metales – *Cu(II)* en este caso– pueden oxidarse a altas velocidades, induciendo así la producción de *HO\** a través de la reacción de Fenton.

**Tabla 22.** Constantes de velocidad ( $M^{-1} s^{-1}$ ) en medio acuoso a 298.15 K para las reacciones de reducción de *Cu(II)*. Nivel de cálculo LC- $\omega$ PBE/6-31++G(d,p).

<b>Especie</b>	$k^{TST}$	$k_{app}$	$k_{tot}$	$k_{global}$
<i>A</i>	5.53E+10	3.08E+09	2.64E+09	2.64E+09
<i>B</i>	3.14E+09	1.59E+09	1.58E+09	1.58E+09
<i>C</i>	2.67E+09	1.46E+09	1.44E+09	1.44E+09
<i>D</i>	2.75E+09	1.49E+09	1.21E+09	1.21E+09
<i>E</i>	1.36E+10	2.59E+09	2.29E+09	2.29E+09
<i>F</i>	2.11E+07	2.11E+07	2.10E+07	2.10E+07
<i>G</i>	9.56E+10	3.17E+09	4.46E+06	4.46E+06
<i>H</i>	5.04E+10	2.98E+09	2.54E+09	2.54E+09
<i>I</i>	2.79E+10	2.72E+09	6.52E+07	6.52E+07
<i>J</i>	4.28E+10	2.91E+09	2.18E+09	2.18E+09
<i>K</i>	1.52E+11	2.95E+09	1.20E+09	1.20E+09
<i>L</i>	4.98E+10	2.88E+09	2.33E+09	2.33E+09

Si bien no se puede hacer una comparación directa entre la actividad anti y pro-oxidante de las especies tioenólicas ya que los estudios se llevaron a cabo a diferentes niveles de teoría, los resultados aquí mostrados permiten demostrar la actividad dual de estas especies. Podría estudiarse la capacidad como quelantes de los tiofenoles para saber si éstos pueden inhibir la reducción del *Cu(II)* y, por lo tanto, también la producción de radicales libres.

# Capítulo VI

## Conclusiones

---

Se demostró que las especies tiofenólicas son antioxidantes secundarios, tanto en medio acuoso como lipídico, ya que tienen la capacidad de reparar el daño causado por estrés oxidativo a los aminoácidos leucina y triptófano así como sus correspondientes péptidos.

El análisis termodinámico y cinético, en conjunto con el análisis de cargas de Mulliken y de densidades de espín de Hirshfeld, permitió la determinación de los mecanismos de reacción a través de los cuales, los tiofenoles actúan como antioxidantes secundarios.

Los valores de  $pK_a$  calculados teóricamente son confiables ya que las diferencias entre los valores experimentales y los calculados fueron menores a 0.5 unidades de  $pK_a$  sin importar el nivel de teoría empleado.

La reparación del radical de leucina se lleva a cabo eficientemente en ambos medios de reacción, sin embargo, se encuentra más favorecida en medio lipídico. El análisis termodinámico permitió demostrar que este proceso no se lleva a cabo mediante la donación de electrones del tiofenol al radical, es decir, la vía *SET* no es una opción, por lo que la única posibilidad de reparación es a través de la donación de átomos de hidrógeno (vía *FHT*). El análisis mecanístico demostró que la reparación se lleva a cabo exclusivamente por la vía *HAT* y que el medio de reacción no ejerce un efecto significativo en el proceso ya que no modifica el mecanismo de reacción. La especie *K* resultó ser el mejor tiofenol reparador del radical de leucina

en medio acuoso mientras que la especie *F* resultó ser la menos eficiente. En medio lipídico, la especie *B* es la más eficiente mientras que la *G* resulta ser la peor.

Para el radical de triptófano, la reparación se lleva a cabo de manera eficiente en ambos medios de reacción, sin embargo, los mecanismos de reacción varían dependiendo de la especie tiofenólica y el medio. En medio acuoso, el análisis termodinámico demostró que las especies *A – F* y *J* no son buenas donadoras de electrones, por lo tanto, la reparación con estas especies ocurre únicamente por la donación de un átomo de hidrógeno. Con base en el análisis de cargas y de espín se determinó que el mecanismo que siguen es *PCET*. Por otro lado, para las especies *G*, *I* y *K* no se ha podido demostrar si son buenas donadoras de átomos de hidrógeno ya que no ha sido posible localizar los *TS*, en ninguno de los dos medios de reacción, sin embargo, se ha demostrado que pueden ejercer su actividad reparadora a través del mecanismo *SET* ya que son buenas donadoras de electrones. El efecto reparador de las especies *H* y *L* se da como una contribución de los mecanismos *SET* y *PCET*. En medio acuoso, la especie *D* es la más eficiente para reparar el daño oxidativo causado al radical triptofanil mientras que la especie *F* es la menos eficiente. Por otro lado, en medio lipídico, el análisis termodinámico comprobó que la reparación de este radical no ocurre por la donación de electrones y con base en el análisis de cargas y espín se demostró que ocurre a través del mecanismo *PCET*. La especie *B* es el antioxidante más eficiente mientras que la especie *J* es el menos eficiente.

Para el péptido de leucina, se comprobó por análisis termodinámico que la reparación no se lleva vía *SET* en ningún medio de reacción, sin embargo, todos los tiofenoles son capaces de reparar a través de la donación de un átomo de hidrógeno. En medio acuoso el tiofenol más eficiente para reparar el daño oxidativo sufrido por el radical de leucina es el *G* mientras que el *I* es el peor. Por otro lado, en medio lipídico la especie *C* y la especie *F* son la mejor y la peor, respectivamente. El mecanismo de reacción que siguen para ejercer su efecto antioxidante es *HAT*.

Con base en el análisis termodinámico, la reparación del péptido de triptófano ocurre como una combinación de los mecanismos *SET* y *PCET* para las especies *A*, *H* y *L* en medio acuoso. Por otro lado, no se sabe si las especies *G*, *I* y *K* actúan por la vía *FHT*, en ninguno de los medios de reacción, pero por la vía *SET* se ha demostrado que son buenas reparadoras. Las que las especies *B – F* y *J* actúan únicamente por la vía *PCET*. En medio lipídico, la única vía posible es *PCET*. Con base en el análisis cinético, las especies *A* y *D* son las más eficientes, en medio acuoso y lipídico, respectivamente, para reparar el daño sufrido por el péptido de triptófano mientras que las especies *F* y *A* son las que actúan a menor velocidad.

Con respecto a la capacidad pro-oxidante de las especies tiofenólicas, se demostró que estas especies son reductores de  $Cu(II)$ , siendo la especie *A* la mejor reductora mientras que la especie *G* es la peor.

# Referencias

---

1. M. Carreon-González, A. Vivier-Bunge, J. R. Alvarez-Idaboy, *Thiophenols, promising scavengers of peroxy radicals; mechanisms and kinetics*. DOI: 10.1002/jcc.25862.
2. H. K. Wang, K. F. Bastow, L. M. Cosentino, K. H. Lee, *Antitumor agents. 166. Synthesis and biological evaluation of 5,6,7,8-Substituted-2-phenylthiochromen-4-ones*. Journal of Medicinal Chemistry, 1996, **39**, 1975-1980.
3. A. M. A. El-Seidy, *Synthesis and characterization of some Schiff bases metal complexes and their investigation as antibacterial and antifungal agents*. Smart Nanocomposites, 2012, **3** (1), 1-16.
4. R. Castañeda-Arriaga, A. Pérez-González, M. Reina, J. R. Alvarez-Idaboy, A. Galano, *Comprehensive investigation of the antioxidant and pro-oxidant effects of phenolic compounds: A double-edged sword in the context of oxidative stress? The Journal of Physical Chemistry B*, 2018, **122** (23), 6198-6214.
5. A. J. León-González, C. Auger, V. B. Schini-Kerth, *Pro-oxidant activity of polyphenols and its implication on cancer chemoprevention and chemotherapy*. Biochemical Pharmacology, 2015, **98**, 371-380.
6. A. Pérez-González, J. R. Alvarez-Idaboy, A. Galano, *Dual antioxidant/pro-oxidant behavior of the tryptophan metabolite 3-hydroxyanthranilic acid: a theoretical investigation of reaction mechanisms and kinetics*. New Journal of Chemistry, 2017, **41**, 3829-3845.
7. A. Galano, J. R. Alvarez-Idaboy, *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.
8. E. Glueckauf, *The Composition of Atmospheric Air*. 1951, Compendium of Meteorology. American Meteorological Society, Boston, MA.
9. L. C. Corrales, M. M. Muñoz-Ariza, *Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno*. Nova, 2012, **10** (18), 213-225.
10. D. L. Nelson, M. M. Cox, A. L. Lehninger, *Principles of Biochemistry*. 2005 W. H. Freeman, New York.

11. S. Graff van Creveld, S. Rosenwasser, D. Schatz, I. Koren, A. Vardi, *Early perturbation in mitochondria redox homeostasis in response to environmental stress predicts cell fate in diatoms*. The ISME Journal, 2015, **9**, 385-395.
12. L. A. Loeb, *Endogenous Carcinogenesis: Molecular Oncology into the Twenty-first Century*. Cancer Research, 1989, **49**, 5489-5496.
13. P. Pacher, J. S. Beckman, L. Liaudet, *Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease*. Physiological Reviews, 2007, **87**, 315-424.
14. M. Genestra, *Oxyl radicals, redox-sensitive signalling cascades and antioxidants*. Cellular Signalling, 2007, **19** (9), 1807-1819.
15. M. Valko, D. Leibfritz, J. Moncol, M. T. D. Cronin, M. Mazur, J. Telser, *Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease*. The International Journal of Biochemistry and Cell Biology, 2007, **39**, 44-84.
16. M. Valko, C. J. Rhodes, J. Moncol, M. Izakovic, M. Mazur, *Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer*. Chemico- Biological Interactions, 2006, **160** (1), 1-40.
17. L. A. Pham-Huy, H. He, C. Pham-Huy, *Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health*. International Journal of Biomedical Science, 2008, **4** (2), 89-96.
18. W. Dröge, *Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function*. Physiological Reviews, 2002, **82**, 47-95.
19. I. S. Young, J. V. Woodside, *Antioxidants in health and disease*. Journal of Clinical Pathology, 2001, **54**, 176-186.
20. B. Halliwell, *Biochemistry of oxidative stress*. Biochemical Society Transactions, 2007, **35** (5), 1147-1150.
21. V. O. Kaminsky, B. Zhivotovsky, *Free Radicals in Cross Talk Between Autophagy and Apoptosis*. Antioxidants and Redox Signaling, 2014, **21** (1), 86-102.
22. H. Yin, M. Zhu, *Free radical oxidation of cardiolipin: chemical mechanisms, detection and implication in apoptosis, mitochondrial dysfunction and human diseases*. Free Radical Research, 2012, **46** (8), 959-974.
23. M. Avelar, A. Martínez, *Do casiopeinas® prevent cancer disease by acting as antiradicals. A chemical reactivity study applying density functional theory*. Journal of the Mexican Chemical Society, 2012, **56** (3), 250-256.
24. H. R. Griffiths, C. R. Dunston, S. J. Bennett, M. M. Grant, D. C. Phillips, G. D. Kitas, *Free radicals and redox signalling in T-cells during chronic inflammation and ageing*. Biochemical Society Transactions, 2011, **39** (5), 1273-1278.

25. A. J. Schetter, N. H. H. Heegaard, C. C. Harris, *Inflammation and cancer: interweaving microRNA, free radical, cytokine and p53 pathways*. *Carcinogenesis*. 2010, **31** (1), 37-49.
26. M. Giannapas, L. Karnis, S. Dailianis, *Generation of free radicals in haemocytes of mussels after exposure to low molecular weight PAH components: Immune activation, oxidative and genotoxic effects*. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Toxicology and Pharmacology*, 2012, **155** (2), 182-189.
27. M. Lantow, J. Schuderer, C. Hartwig, M. Simkó, *Free Radical Release and HSP70 Expression in Two Human Immune-Relevant Cell Lines after Exposure to 1800 MHz Radiofrequency Radiation*. *Radiation Research Society*, 2006, **165** (1), 88-94.
28. Y. Ren, B. Wei, X. Song, N. An, Y. Zhou, X. Jin, Y. Zhang, *Edaravone's free radical scavenging mechanisms of neuroprotection against cerebral ischemia: review of the literature*. *International Journal of Neuroscience*, 2015, **125** (8), 555-565.
29. Z. V. Niatsetskaya, S. A. Sosunov, D. Matsiukevich, I. V. Utkina-Sosunova, V. I. Ratner, A. A. Starkov, V. S. Ten, *The Oxygen Free Radicals Originating from Mitochondrial Complex I Contribute to Oxidative Brain Injury Following Hypoxia–Ischemia in Neonatal Mice*. *The Journal of Neuroscience*, 2012, **32** (9), 3235-3244.
30. H. Maeda, *The link between infection and cancer: Tumor vasculature, free radicals, and drug delivery to tumors via the EPR effect*. *Cancer Science*, 2013, **104** (7), 779-789.
31. M. Guha, P. Maity, V. Choubey, K. Mitra, R. J. Reiter, U. Bandyopadhyay, *Melatonin inhibits free radical-mediated mitochondrial-dependent hepatocyte apoptosis and liver damage induced during malarial infection*. *Journal of Pineal Research*, 2007, **43** (4), 372-381.
32. C. De Luca, I. Deeva, S. Mariani, G. Maiani, A. Stancato, L. Korkina, *Monitoring antioxidant defenses and free radical production in space-flight, aviation and railway engine operators, for the prevention and treatment of oxidative stress, immunological impairment, and pre-mature cell aging*. *Toxicology and Industrial Health*, 2009, **25** (4–5), 259–267.
33. D. Morales-Alamo, J. A. L. Calbet, *Free radicals and sprint exercise in humans*. *Free Radical Research*, 2014, **48** (1), 30-42.
34. L. Benameur, N. Charif, Y. Li, J. F. Stoltz, N. De Isla, *Toward an understanding of mechanism of aging-induced oxidative stress in human mesenchymal stem cells*. *Bio-Medical Materials and Engineering*, 2015, **25**, 41-46.

35. M. Shiraiwa, K. Selzle, U. Pöschl, *Hazardous components and health effects of atmospheric aerosol particles: reactive oxygen species, soot, polycyclic aromatic compounds and allergenic proteins*. Free Radical Research, 2012, **46** (8), 927-939.
36. N. Valencia-Islas, A. Zambrano, J. L. Rojas, *Ozone Reactivity and Free Radical Scavenging Behavior of Phenolic Secondary Metabolites in Lichens Exposed to Chronic Oxidant Air Pollution from Mexico City*. Journal of Chemical Ecology, 2007, **33** (8), 1619-1634.
37. P. Kamiński, N. Kurhalyuk, M. Szady-Grad, *Heavy Metal-Induced Oxidative Stress and Changes in Physiological Process of Free Radicals in the Blood of White Stork (Ciconia ciconia) Chicks in Polluted Areas*. Polish Journal of Environmental Studies, 2007, **16** (4), 555-562.
38. E. Vejerano, S. Lomnicki, B. J. Dellinger, *Lifetime of combustion-generated environmentally persistent free radicals on Zn(II)O and other transition metal oxides*. Journal of Environmental Monitoring, 2012, **14** (10), 2803-2806.
39. E. A. Robinson, J. D. Johnson, *Methods for Analysis of Free Radicals in Cigarette Smoke*. Mini-Reviews in Organic Chemistry, 2011, **8** (4), 401-411.
40. Y. Wang, Y. Zhang, D. Wu, B. Liu, W. Xie, *Electron Paramagnetic Resonance Spin-trapping Study of Free Radicals in Gas Phase of Mainstream Cigarette Smoke Using Two Spin Traps*. Tobacco Science and Technology, 2014, **47**, 47-53.
41. K. Michail, A. Baghdasarian, M. Narwaley, N. Aljuhani, A. G. Siraki, *Scavenging of Free-Radical Metabolites of Aniline Xenobiotics and Drugs by Amino Acid Derivatives: Toxicological Implications of Radical-Transfer Reactions*. Chemical Research in Toxicology, 2013, **26** (12), 1872-1883.
42. S. L. Aleryani, R. A. Aleryani, A. A. Al-Akwa, *Khat a drug of abuse: roles of free radicals and antioxidants*. Drug Testing and Analysis, 2011, **3** (9), 548-551.
43. M. Narwaley, K. Michail, P. Arvadia, A. G. Siraki, *Drug-Induced Protein Free Radical Formation Is Attenuated by Unsaturated Fatty Acids by Scavenging Drug-Derived Phenyl Radical Metabolites*. Chemical Research in Toxicology, 2011, **24** (7), 1031-1039.
44. A. G. Karadayian, J. Bustamante, A. Czerniczyniec, P. Lombardi, R. A. Cutrera, S. Lores-Arnaiz, *Alcohol hangover induces mitochondrial dysfunction and free radical production in mouse cerebellum*. Neuroscience, 2015, **304**, 47-59.
45. E. Albano, *Alcohol, oxidative stress and free radical damage*. Proceedings of the Nutrition Society, 2006, **65** (3), 278-290.

46. D. R. Spitz, M. Hauer-Jensen, *Ionizing Radiation-Induced Responses: Where Free Radical Chemistry Meets Redox Biology and Medicine*. *Antioxidants and Redox Signaling*, 2014, **20** (9), 1407-1409.
47. F. Rancan, B. Nazemi, S. Rautenberg, M. Ryll, S. Hadam, Q. Gao, S. Hackbarth, S. F. Haag, C. Graf, E. Rühl, U. Blume-Peytavi, J. Lademann, A. Vogt, M. C. Meinke, *Ultraviolet radiation and nanoparticle induced intracellular free radicals generation measured in human keratinocytes by electron paramagnetic resonance spectroscopy*. *Skin Research and Technology*, 2014, **20** (2), 182-193.
48. A. Burlaka, O. Tsybulin, E. Sidorik, S. Lukin, V. Polishuk, S. Tsehmistrenko, I. Yakymenko, *Overproduction of Free Radical Species in Embryonal cells exposed to Low Intensity Radiofrequency Radiation*. *Experimental Oncology*, 2013, **35** (3), 219-225.
49. R. F. Guo, P. A. Ward, *Role of oxidants in lung injury during sepsis*. *Antioxidant Redox Signal*, 2007, **9** (11), 1991-2002.
50. L. Zuo, A. H. Hallman, M. K. Yousif, M. T. Chien, *Oxidative stress, respiratory muscle dysfunction, and potential therapeutics in chronic obstructive pulmonary disease*. *Frontiers in Biology*, 2012, **7** (6), 506-513.
51. E. Ozbek, *Induction of Oxidative Stress in Kidney*. *International Journal of Nephrology*, 2012, **2012**, 1-9.
52. D. M. Small, N. C. Bennett, S. Roy, B. G. Gabrielli, D. W. Johnson, G. C. Gobe, *Oxidative Stress and Cell Senescence Combine to Cause Maximal Renal Tubular Epithelial Cell Dysfunction and Loss in an in vitro Model of Kidney Disease*. *Nephron Experimental Nephrology*, 2013, **122**, 123-130.
53. M. Dogru, T. H. Wakamatsu, T. Kojima, Y. Matsumoto, T. Kawakita, C. Schnider, *The Role of Oxidative Stress and Inflammation in Dry Eye Disease*. *Cornea*, 2009, **28** (11), S70-S74.
54. S. Beatty, H. Koh, M. Phil, D. Henson, M. Boulton, *The Role of Oxidative Stress in the Pathogenesis of Age-Related Macular Degeneration*. *Survey of Ophthalmology*, 2000, **45** (2), 115-134.
55. C. J. Wruck, A. Fragoulis, A. Gurzynski, L. O. Brandenburg, Y. W. Kan, K. Chan, J. Hassenpflug, S. Freitag-Wolf, D. Varoga, S. Lippross, T. Pufe, *Role of oxidative stress in rheumatoid arthritis: insights from the Nrf2-knockout mice*. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 2011, **70** (5), 844-850.
56. P. Vasanthi, G. Nalini, G. Rajasekhar, *Status of oxidative stress in rheumatoid arthritis*. *International Journal of Rheumatic Diseases*, 2009, **12** (1), 29-33.

57. K. Braekke, N. K. Harsem, A. C. Staff, *Oxidative Stress and Antioxidant Status in Fetal Circulation in Preeclampsia*. Pediatric Research, 2006, **60**, 560-564
58. A. Biri, N. Bozkurt, A. Turp, M. Kavutcu, Ö Himmetoglu, I. Durak, *Role of Oxidative Stress in Intrauterine Growth Restriction*. Gynecologic Obstetric Investigation, 2007, **64** (4), 187-192.
59. J. Wang, J. Z. Li, A. X. Lu, K. F. Zhang, B. J. Li, *Anticancer effect of salidroside on A549 lung cancer cells through inhibition of oxidative stress and phospho-p38 expression*. Oncology Letters, 2014, **7** (4), 1159-1164.
60. M. Valko, M. Izakovic, M. Mazur, C. J. Rhodes, J. Telser, *Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence*. Molecular and Cellular Biochemistry, 2004, **266** (1-2), 37-56.
61. M. Valko, D. Leibfritz, J. Moncol, M. T. D. Cronin, M. Mazur, J. Telser, *Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease*. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 2007, **39** (1), 44-84.
62. N. F. Boyd, V. McGuire, *The Possible Role of Lipid Peroxidation in Breast Cancer Risk*. Free Radical Biology and Medicine, 1991, **10** (3-4), 185-190.
63. P. Knekt, A. Reunanen, H. Takkunen, A. Aromaa, M. Heliövaara, T. Hakulinen, *Body iron stores and risk of cancer*. International Journal of Cancer, 1994, **56** (3), 379-382.
64. B. Halliwell, *Role of free radicals in the neurodegenerative diseases: therapeutic implications for antioxidant treatment*. Drugs and Aging. 2001, **18** (9), 685-716.
65. D. J. Bonda, X. Wang, G. Perry, A. Nunomura, M. Tabaton, X. Zhu, M. A. Smith, *Oxidative stress in Alzheimer disease: a possibility for prevention*. Neuropharmacology, 2010, **59** (4-5), 290-294.
66. M. H. Yan, X. Wang, X. Zhu, *Mitochondrial defects and oxidative stress in Alzheimer disease and Parkinson disease*. Free Radical Biology and Medicine, 2013, **62**, 90-101.
67. Y. Christen, *Oxidative stress and Alzheimer disease*. The American Journal of Clinical Nutrition, 2000, **71** (2), 621S-629S.
68. D. A. Street, G. Comstock, R. Salkeld, M. Klag, *Serum antioxidants and myocardial infarction. Are low levels of carotenoids and alpha-tocopherol risk factors for myocardial infarction?* Circulation, 1994, **90** (3), 1154-1161.
69. M. Matsuda, I. Shimomura, *Roles of adiponectin and oxidative stress in obesity-associated metabolic and cardiovascular diseases*. Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders, 2014, **15** (1), 1-10.

70. N. Nair, E. Gongora, *Oxidative Stress and Cardiovascular Aging: Interaction Between NRF-2 and ADMA*. Current Cardiology Reviews, 2017, **13** (3), 183-188.
71. N. G. Stephens, A. Parsons, P. M. Schofield, F. Kelly, K. Cheesman, M. J. Mitchinson, M. J. Brown, *Randomised controlled trial of 3in E in patients with coronary disease: Cambridge Heart Antioxidant Study (CHAOS)*. The Lancet, 1996, **347** (9004), 781-786.
72. H. N. Hodis, W. J. Mack, L. LaBree, L. Cashin-Hemphill, A. Sevanian, R. Johnson, S. P. Azen, *Serial Coronary Angiographic Evidence That Antioxidant Vitamin Intake Reduces Progression of Coronary Artery Atherosclerosis*. Journal of the American Medical Association, 1995, **273** (23), 1849-1854.
73. A. Galano, *Free Radicals Induced Oxidative Stress at a Molecular Level: The Current Status, Challenges and Perspectives of Computational Chemistry Based Protocols*. Journal of the Mexican Chemical Society, 2015, **59** (4), 231-262.
74. A. Svobodová, J. Psotová, D. Walterová, *Natural Phenolics in the Prevention of UV-Induces Skin Damage. A Review*. Biomedical Papers, 2003, **147** (2), 137-145.
75. R. Álvarez-Diduk, M. T. Ramírez-Silva, A. Galano, A. Merkoçi, *Deprotonation Mechanism and Acidity Constants in Aqueous Solution of Flavonols: a Combined Experimental and Theoretical Study*. The Journal of Physical Chemistry B, 2013, **117** (41), 12347-12359.
76. J. R. León-Carmona, A. Galano, J. R. Alvarez-Idaboy, *Deprotonation routes of anthocyanidins in aqueous solution, pKa values, and speciation under physiological conditions*. RSC Advances, 2016, **6**, 53421-53429.
77. A. Martínez, *Donator Acceptor Map of Psittacofulvins and Anthocyanins: Are They Good Antioxidant Substances?* The Journal of Physical Chemistry B, 2009, **113** (14), 4915-4921.
78. A. Martínez, A. Galano, R. Vargas, *Free Radical Scavenger Properties of  $\alpha$ -Mangostin: Thermodynamics and Kinetics of HAT and RAF Mechanisms*. The Journal of Physical Chemistry B, 2011, **115** (43), 12591-12598.
79. T. Marino, A. Galano, N. Russo, *Radical Scavenging Ability of Gallic Acid toward OH and OOH Radicals. Reaction Mechanism and Rate Constants from the Density Functional Theory*. The Journal of Physical Chemistry B, 2014, **118** (35), 10380-10389.
80. C. Iuga, J. R. Alvarez-Idaboy, N. Russo, *Antioxidant Activity of trans-Resveratrol toward Hydroxyl and Hydroperoxyl Radicals: A Quantum Chemical and Computational Kinetics Study*. The Journal of Organic Chemistry, 2012, **77** (8), 3868-3877.

81. M. Cordova-Gomez, A. Galano, J. R. Alvarez-Idaboy, *Piceatannol, a better peroxy radical scavenger than resveratrol*. RSC Advances, 2013, 3, 20209-20218.
82. A. Galano, R. Vargas, A. Martínez, *Carotenoids can act as antioxidants by oxidizing the superoxide radical anion*. Physical Chemistry Chemical Physics, 2010, **12**, 193-200.
83. A. Martínez, R. Vargas, A. Galano, *Theoretical study on the chemical fate of adducts formed through free radical addition reactions to carotenoids*. Theoretical Chemistry Accounts, 2010, **127**, 595-603.
84. E. Hernandez-Marin, A. Galano, A. Martínez, *Cis Carotenoids: Colorful Molecules and Free Radical Quenchers*. The Journal of Physical Chemistry B, 2013, **117** (15), 4050-4061.
85. A. Martínez, C. M. Stinco, A. J. Meléndez-Martínez, *Free Radical Scavenging Properties of Phytofluene and Phytoene Isomers as Compared to Lycopene: A Combined Experimental and Theoretical Study*. The Journal of Physical Chemistry B, 2014, **118** (33), 9819-9825.
86. B. Robillard, L. Hughes, M. Slaby, D. A. Lindsay, K. U. Ingold, *Synthesis of 2-Substituted 5,7,8-Trimethyl-6-hydroxythiochromans and Purported Syntheses of Sulfur-Containing Analogues of Vitamin E*. The Journal of Organic Chemistry, 1986, **51** (10), 1700-1704.
87. A. Martínez, A. Barbosa, *Antiradical Power of Carotenoids and Vitamin E: Testing the Hydrogen Atom Transfer Mechanism*. The Journal of Physical Chemistry B, 2008, **112** (51), 16945-16951.
88. A. Martínez, M. A. Rodríguez-Gironés, A. Barbosa, M. Costas, *Donator Acceptor Map for Carotenoids, Melatonin and Vitamins*. The Journal of Physical Chemistry A, 2008, **112** (38), 9037-9042.
89. T. E. Ahmed-Ardjani, J. R. Alvarez-Idaboy, *Radical scavenging activity of ascorbic acid analogs: kinetics and mechanisms*. Theoretical Chemistry Accounts, 2018, **137**: 69.
90. L. Muñoz-Rugeles, J. R. Alvarez-Idaboy, *A proton-electron sequential transfer mechanism: theoretical evidence about its biological relevance*. Physical Chemistry Chemical Physics, 2015, **17**, 28525-28528.
91. G. Atmaca, *Antioxidant Effects of Sulfur-Containing Amino Acids*. Yonsei Medical Journal, 2004, **45** (5), 776-788.
92. D. M. Townsend, K. D. Tew, H. Tapiero, *Sulfur containing amino acids and human disease*. Biomedicine and Pharmacotherapy, 2004, **58**, 47-55.
93. E. E. Battin, J. L. Brumaghim, *Metal specificity in DNA damage prevention by sulfur antioxidants*. Journal of Inorganic Biochemistry, 2008, **102**, 3036-3042.

94. E. E. Battin, J. L. Brumaghim, *Antioxidant Activity of Sulfur and Selenium: A Review of Reactive Oxygen Species Scavenging, Glutathione Peroxidase, and Metal-Binding Antioxidant Mechanisms*. Cell Biochemistry and Biophysics, 2009, **55** (1), 1-23.
95. C. C. Yeh, M. F. Hou, S. H. Wu, S. M. Tsai, S. K. Lin, L. A. Hou, H. Ma, L. Y. Tsai, *A study of glutathione status in the blood and tissues of patients with breast cancer*. Cell Biochemistry and Function, **24**, 2006, 555–559.
96. S. Parcell, *Sulfur in human nutrition and applications in medicine*. Alternative Medicine Review, 2002, **7**, 22-44.
97. G. I. Giles, K. M. Tasker, C. Jacob, *Hypothesis: The Role of Reactive Sulfur Species in Oxidative Stress*. Free Radical Biology and Medicine, 2001, **31** (10), 1279–1283.
98. A. Galano, J. R. Álvarez-Idaboy, *On the Chemical Repair of DNA Radicals by Glutathione: Hydrogen vs Electron Transfer*. The Journal of Physical Chemistry B, 2012, **116** (31), 9316-9325.
99. A. Galano, J. R. Álvarez-Idaboy, *Glutathione: mechanism and kinetics of its non-enzymatic defense action against free radicals*. RSC Advances, 2011, **1**, 1763-1771.
100. R. Castañeda-Arriaga, A. Vivier-Bunge, J. R. Alvarez-Idaboy, *Primary antioxidant and metal-binding effects of tiopronin: A theoretical investigation of its action mechanism*. Computational and Theoretical Chemistry, 2016, **1077**, 48-57.
101. R. Castañeda-Arriaga, J. R. Álvarez-Idaboy, *Lipoic Acid and Dihydrolipoic Acid. A Comprehensive Theoretical Study of Their Antioxidant Activity Supported by Available Experimental Kinetic Data*. Journal of Chemical Information and Modeling, 2014, **54**, 1642-1662.
102. F. Navari-Izzo, M. F. Quartacci, C. Sgherri, *Lipoic acid: a unique antioxidant in the detoxification of activated oxygen species*. Plant Physiology and Biochemistry, 2002, **40** (6-8), 463-470.
103. X. Y. Cao, J. Yang, F. Dai, D. J. Ding, Y. F. Kang, F. Wang, X. Z. Li, G. Y. Liu, S. S. Yu, X. L. Jin, B. Zhou, *Extraordinary Radical Scavengers: 4-Mercaptostilbenes*. Chemistry a European Journal, 2012, **18** (19), 5898–5905.
104. F. Santangelo, *Intracellular thiol concentration modulating inflammatory response: influence on the regulation of cell functions through cysteine prodrug approach*. Current Medicinal Chemistry, 2003, **10** (23), 2599-2610.
105. J. Chung, H. S. Lee, H. Y. Chung, T. R. Yoon, H. K. Kim, *Salicylideneamino-2-thiophenol inhibits inflammatory mediator genes (RANTES, MCP-1, IL-8 and HIF-1a)*

- expression induced by tert-butyl hydroperoxide via MAPK pathways in rat peritoneal macrophages*. Biotechnology Letters, 2008, **30**, 1553-1558.
106. L. W. Lawrence-Woo, M. Lightowler, A. Purohit, M. J. Reed, B. V. L. Potter, *Heteroatom-Substituted Analogues of the Active-Site Directed Inhibitor Estra- 1,3,5 (10)-Trien- 17- One- 3- Sulphamate Inhibit Estrone Sulphatase by a Different Mechanism*. The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology, 1996, **57**, 79-88.
107. A. Rahal, A. Kumar, V. Singh, B. Yadav, R. Tiwari, S. Chakraborty, K. Dhama, *Oxidative Stress, Prooxidants, and Antioxidants: The Interplay*. BioMed Research International, 2014, 761264.
108. P. Geerlings, F. De Proft, W. Langenaeker, *Conceptual Density Functional Theory*. Chemical Reviews, 2003, **103**, 1793-1873.
109. G. Cuevas, F. Cortés, *Introducción a la Química Computacional*. 2003, Fondo de Cultura Económica, México.
110. A. Galano, J. R. Álvarez-Idaboy, *Computational strategies for predicting free radical scavengers' protection against oxidative stress: Where are we and what might follow?* International Journal of Quantum Chemistry, 2018, e25665.
111. A. Martínez, R. Vargas, A. Galano, *What is important to prevent oxidative stress? A theoretical study on electron-transfer reactions between carotenoids and free radicals*. Journal of Physical Chemistry B, 2009, **113**, 12113-12120.
112. J. M. Mayer, D. A. Hrovat, J. L. Thomas, W. T. Borden, *Proton-Coupled Electron Transfer versus Hydrogen Atom Transfer in Benzyl/Toluene, Methoxyl/Methanol, and Phenoxyl/ Phenol Self-Exchange Reactions*. Journal of the American Chemical Society, 2002, **124**, 11142-11147.
113. L. Muñoz-Rugeles, *Estudio teórico de la reparación del daño causado por radicales libres de modelos proteicos y lipídicos y sus mecanismos de acción*. 2017, Tesis de Doctorado, UNAM.
114. L. Muñoz-Rugeles, A. Galano, J. R. Álvarez-Idaboy, *Non-covalent  $\pi$ - $\pi$  stacking interactions turn off non-adiabatic effects in proton-coupled electron transfer reactions*. Physical Chemistry Chemical Physics, 2017, **19**, 6969-6972.
115. A. Sirjoosingh, S. Hammes-Schiffer, *Proton-Coupled Electron Transfer versus Hydrogen Atom Transfer: Generation of Charge-Localized Diabatic States*. The Journal of Physical Chemistry B, 2011, **115**, 2367-2377.

116. Litwinienko, K. U. Ingold, *Abnormal Solvent Effects on Hydrogen Atom Abstractions*.  
1. *The Reactions of Phenols with 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (dpph\*) in Alcohols*. The Journal of Organic Chemistry, 2003, **68** (9), 3433-3438.
117. G. Litwinienko, K. U. Ingold, *Abnormal Solvent Effects on Hydrogen Atom Abstraction*.  
2. *Resolution of the Curcumin Antioxidant Controversy. The Role of Sequential Proton Loss Electron Transfer*. The Journal of Organic Chemistry, 2004, **68** (18), 5888–5896.
118. G. Litwinienko, K. U. Ingold, *Abnormal Solvent Effects on Hydrogen Atom Abstraction*.  
3. *Novel Kinetics in Sequential Proton Loss Electron Transfer Chemistry*. The Journal of Organic Chemistry, 2005, **70** (22), 8982–8990.
119. G. Litwinienko, K. U. Ingold, *Solvent Effects on the Rates and Mechanisms of Reaction of Phenols with Free Radicals*. Accounts of Chemical Research, 2007, **40** (3), 222-230.
120. L. Muñoz-Rugeles, A. Galano, J. R. Álvarez-Idaboy, *The role of acid–base equilibria in formal hydrogen transfer reactions: tryptophan radical repair by uric acid as a paradigmatic case*. Physical Chemistry Chemical Physics, 2017, **19**, 15296-15309.
121. C. J. Cramer, *Essentials of Computational Chemistry. Theories and Models*. 2004, Wiley, England.
122. F. Jensen, *Introduction to Computational Chemistry*. 2007, Wiley, England.
123. A. V. Marenich, C. J. Cramer, D. G. Truhlar, *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** (18), 6378–6396.
124. H. Pelzer, E. Wigner, *Über die Geschwindigkeitskonstante von Austauschreaktionen*. Zeitschrift für Physikalische Chemie, 1932, **B15** (1), 445-471.
125. H. Eyring, *The Activated Complex in Chemical Reactions*. Journal of Chemical Physics, 1935, **3**, 107-115.
126. M. G. Evans, M. Polanyi, *Some applications of the transition state method to the calculation of reaction velocities, especially in solution*. Transactions of the Faraday Society, 1935, **31**, 875-894.
127. K. J. Laidler, J. H. Meiser, *Fisicoquímica*. 2013, Grupo Editorial Patria, México.
128. J. H. van't Hoff, *Etudes de Dynamique Chimique*. 1884, Muller, Amsterdam.
129. S. Arrhenius, *Über die Reaktionsgeschwindigkeit bei der Inversion von Rohrzucker durch Säuren*. Zeitschrift für Physikalische Chemie, 1889, **4U** (1), 226-248.
130. C. Eckart, *The Penetration of a Potential Barrier by Electrons*. Physical Review, 1930, **35** (11), 1303-1309.

131. Gaussian 09, Revision E.01, Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Mennucci, B.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Caricato, M.; Li, X.; Hratchian, H. P.; Izmaylov, A. F.; Bloino, J.; Zheng, G.; Sonnenberg, J. L.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Vreven, T.; Montgomery, J. A., Jr.; Peralta, J. E.; Ogliaro, F.; Bearpark, M.; Heyd, J. J.; Brothers, E.; Kudin, K. N.; Staroverov, V. N.; Kobayashi, R.; Normand, J.; Raghavachari, K.; Rendell, A.; Burant, J. C.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Cossi, M.; Rega, N.; Millam, J. M.; Klene, M.; Knox, J. E.; Cross, J. B.; Bakken, V.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R. E.; Yazyev, O.; Austin, A. J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J. W.; Martin, R. L.; Morokuma, K.; Zakrzewski, V. G.; Voth, G. A.; Salvador, P.; Dannenberg, J. J.; Dapprich, S.; Daniels, A. D.; Farkas, Ö.; Foresman, J. B.; Ortiz, J. V.; Cioslowski, J.; Fox, D. J. Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2009.
132. S. W. Benson, *The Foundations of Chemical Kinetics*. 1960, McGraw-Hill Book Company Inc., New York.
133. F. C. Collins, G. E. Kimball, *Diffusion-controlled reaction rates*. *Journal of Colloid Science*, 1949, **4** (4), 425-437.
134. M. von Smoluchowski, *Grundriß der Koagulationskinetik kolloider Lösungen*. *Kolloid-Zeitschrift*, 1917, **21** (3), 98-104.
135. D. G. Truhlar, *Nearly Encounter-Controlled Reactions*. *Journal of Chemical Education*, 1985, **62** (2), 104-106.
136. G. G. Stokes, *Mathematical and Physical Papers*. Cambridge Library Collection-Mathematics, Vol. 3, 1903, Cambridge University Press.
137. A. Einstein, Über die von der molekularkinetischem Theorie der Wärme geforderte Bewegung von in ruhenden Flüssigkeiten suspendierten Teilchen. *Annalen der Physik*, 1905, **17** (8), 549-560.
138. R. A. Marcus, *On the Theory of Oxidation-Reduction Reactions Involving Electron Transfer. I*. *The Journal of Chemical Physics*, 1956, **24** (5), 966-978.
139. R. A. Marcus, *On the Theory of Oxidation-Reduction Reactions Involving Electron Transfer. II. Applications to Data on the Rates of Isotopic Exchange Reactions*. *The Journal of Chemical Physics*, 1957, **26** (4), 867-871.
140. R. A. Marcus, *On the Theory of Oxidation-Reduction Reactions Involving Electron Transfer. III. Applications to Data on the Rates of Organic Redox Reactions*. *The Journal of Chemical Physics*, 1957, **26** (4), 872-877.

141. A. Pérez-González, R. Castañeda-Arriaga, B. Verastegui, M. Carreón- González, J. R. Alvarez-Idaboy, A. Galano, *Estimation of empirically fitted parameters for calculating pKa values of thiols in a fast and reliable way*. Theoretical Chemistry Accounts, 2018, **137** (5), 1-10.
142. J. R. Pliego, J. M. Riveros, *Theoretical calculation of pKa using the cluster-continuum model*. The Journal of Physical Chemistry A, 2002, **106** (32), 7434-7439.
143. J. Ho, M. L. Coote, *A universal approach for continuum solvent pKa calculations: are we there yet?* Theoretical Chemistry Accounts, 2010, **125** (3), 1 -19.
144. A. Galano, A. Pérez-González, R. Castañeda-Arriaga, L. Muñoz-Rugeles, G. Mendoza-Sarmiento, A. Romero-Silva, A. Ibarra-Escutia, A. M. Rebollar-Zepeda, J. R. León-Carmona, M. A. Hernández-Olivares, J. R. Alvarez-Idaboy, *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**, 114-1724.
145. B. Chan, R. J. O'Reilly, C. J. Easton, L. Radom, *Reactivities of Amino Acid Derivatives Toward Hydrogen Abstraction by Cl<sup>•</sup> and OH<sup>•</sup>*. The Journal of Organic Chemistry, 2012, **77**, 9807-9812.
146. M. E. Medina, A. Galano, J. R. Álvarez-Idaboy, *Site reactivity in the free radicals induced damage to leucine residues: a theoretical study*. Physical Chemistry Chemical Physics, 2015, **17** (7), 4970-4976.
147. R. Castañeda-Arriaga, N. Mora-Diez, J. R. Álvarez-Idaboy, *Modelling the chemical repair of protein carboncentered radicals formed via oxidative damage with dihydrolipoic acid*. RSC Advances, 2015, **5**, 96714-96719.
148. A. S. Domazou, H. Zhu, W. H. Koppenol, *Fast repair of protein radicals by urate*. Free Radical Biology and Medicine, 2012, **52**, 1929-1936.
149. Y. Zhao, D. G. Truhlar, *The M06 suite of density functionals for main group thermochemistry, thermochemical kinetics, noncovalent interactions, excited states, and transition elements: two new functionals and systematic testing of four M06-class functionals and 12 other functionals*. Theoretical Chemistry Accounts, 2008, **120**, 215-241.
150. R. S. Mulliken, *Electronic Population Analysis on LCAO–MO Molecular Wave Functions. I*. Journal of Chemical Physics, 1955, **23** (10), 1833-1840.
151. F. L. Hirschfeld, *Bonded-atom fragments for describing molecular charge densities*. Theoretica Chimica Acta, 1977, **44** (2), 129-138.

152. H. J. H. Fenton, *Oxidation of tartaric acid in presence of iron*. Journal of the Chemical Society Transaction, 1894, **65**, 899-910.
153. J. Prousek, *Fenton chemistry in biology and medicine*. Pure and Applied Chemistry, 2007, **79** (12), 2325–2338.
154. R. Castañeda-Arriaga, J. R. Alvarez-Idaboy, N. Mora-Diez, *Theoretical study of copper complexes with lipoic and dihydrolipoic acids*. RSC Advances, 2016, **6**, 107924-107932.
155. O. A. Vydrov, G. E. Scuseria, *Assessment of a long-range corrected hybrid functional*. The Journal of Chemical Physics, 2006, **125**, 234109.
156. R. P. Bell, *The Theory of Reactions Involving Proton Transfers*. Proceedings of the Royal Society of London. Series A-Mathematical and Physical Sciences, 1936, **154** (882), 414.

# Anexos

---

## A1. Teoría de los Funcionales de la Densidad

Dentro de los métodos computacionales disponibles en la actualidad, la teoría de los funcionales de la densidad (*DFT*, por sus siglas en inglés) se destaca como uno de los más empleados ya que permite el cálculo de las propiedades moleculares con un alto nivel de precisión y un bajo costo computacional.

En esta teoría, la energía total del sistema puede ser expresada en términos de la densidad electrónica  $\rho(r)$ , la cual, depende solamente de tres coordenadas, en lugar de usar la función de onda  $\Psi$ , la cual, depende de las  $3N$  coordenadas de las  $N$  partículas que conforman el sistema. La *DFT* se encuentra basada en los teoremas de Hohenberg–Kohn<sup>1</sup> y las ecuaciones de Kohn–Sham<sup>2</sup>.

Los teoremas de Hohenberg y Kohn demuestran que la densidad electrónica del sistema en estado basal,  $\rho_0(r)$ , determina el potencial externo,  $V_{ne}$ , y el número de electrones, por tanto, es posible determinar el Hamiltoniano electrónico<sup>3</sup>. Además, establecen que existe un principio variacional análogo al de la Mecánica Cuántica, lo cual, asegura que la energía dada por una densidad electrónica aproximada  $\rho'(r)$  será siempre superior a la energía exacta del estado basal.

Con base en lo anterior, se prueba que la energía de un sistema de  $N$  electrones es un funcional de su densidad,  $E = E[\rho(r)]$ , y puede expresarse como indica la *Ecuación (1)*:

---

<sup>1</sup> P. Hohenberg, W. Kohn, *Phys Rev.*, **1964**, 136 (3B), B864.

<sup>2</sup> W. Kohn, L. J. Sham, *Phys. Rev.*, **1965**, 140 (4A), A1133.

<sup>3</sup> F. Jensen, *Introduction to Computational Chemistry*. **2007**, Wiley, England.

$$E[\rho(r)] = \int \rho(r)v(r)dr + F[\rho(r)] \quad (1)$$

donde  $v(r)$  es el potencial externo y  $F[\rho(r)]$  es el funcional universal de Hohenberg y Kohn y está definido como la *Ecuación (2)* expresa:

$$F[\rho(r)] = T[\rho(r)] + V_{ee}[\rho(r)] \quad (2)$$

donde  $T[\rho(r)]$  es la energía cinética y  $V_{ee}[\rho(r)]$  es la energía clásica de repulsión electrón–electrón. Este funcional es independiente del sistema en cuestión (no dependiente de  $v(r)$ ) por lo que es universal, sin embargo, es desconocido.

Por su parte, Kohn y Sham desarrollaron una metodología a través de la cual, la densidad electrónica puede ser expresada en términos de los orbitales de Kohn–Sham, los cuales, minimizan la energía a través de un método iterativo análogo al campo auto–consistente de Hartree–Fock<sup>4,5</sup>, *Ecuación (3)*:

$$\rho(r) = \sum_i^N \sum_s |\phi_i(r, s)|^2 \quad (3)$$

De esta manera, la energía cinética se puede aproximar a la de un sistema de partículas no interactuantes, *Ecuación (4)*:

$$T[\rho(r)] = \sum_i^N \left\langle \phi_i \left| -\frac{1}{2} \nabla^2 \right| \phi_i \right\rangle \quad (4)$$

Por lo que el funcional universal de Hohenberg y Kohn puede aproximarse como la *Ecuación (5)* expresa:

$$F[\rho(r)] = T_s[\rho(r)] + J[\rho(r)] + E_{xc}[\rho(r)] \quad (5)$$

---

<sup>4</sup> C. J. Cramer, *Essentials of Computational Chemistry. Theories and Models*. 2004, Wiley, England.

<sup>5</sup> E. Lewars, *Computational Chemistry. Introduction to the Theory and Applications of Molecular and Quantum Mechanics*. 2003, Kluwer Academic Publishers, New York.

donde  $J[\rho(r)]$  es la energía clásica de interacción coulombica y  $E_{XC}$  es el funcional de la energía de intercambio y correlación. Este último término contiene a la energía de intercambio que resulta de la antisimetría de la función de onda y a la correlación dinámica entre los movimientos individuales de los electrones.

En la práctica,  $E_{XC}[\rho(r)]$  se puede separar en dos partes: una que contiene el intercambio de electrones,  $E_X[\rho(r)]$ , y otra que contiene la correlación entre electrones,  $E_C[\rho(r)]$ <sup>3</sup>, Ecuación (6):

$$E_{XC}[\rho(r)] = E_X[\rho(r)] + E_C[\rho(r)] \quad (6)$$

El grado de exactitud del funcional de intercambio y correlación está determinado por los funcionales  $E_X[\rho(r)]$  y  $E_C[\rho(r)]$ , los cuales, pueden depender de diferentes variables como son la densidad electrónica,  $\rho(r)$ , el gradiente de la densidad electrónica,  $\nabla\rho(r)$ , el laplaciano de la densidad electrónica,  $\nabla^2\rho(r)$ , el intercambio exacto Hartree–Fock,  $E_X^{HF}$ , entre otras<sup>3-6</sup>, por lo que en la actualidad existe una amplia gama de funcionales que pueden ser empleados en el estudio de sistemas químicos.

John Perdew propuso una clasificación de funcionales, la cual, se basa en las diferentes variables que pueden emplearse para el diseño de los funcionales de intercambio y correlación conocida coloquialmente como la escalera de Jacob<sup>7</sup>. Todo el esfuerzo en *DFT* se encuentra centrado en desarrollar nuevos funcionales de intercambio y correlación que alcancen la exactitud química, la cual, se ha fijado en ser menor a 1 *kcal/mol* con respecto al valor experimental<sup>8</sup>. Aunque en principio el grado de exactitud de los cálculos *DFT* depende de la aproximación –nivel o escalón en la escalera– hecha para construir el  $E_{XC}$ , no existe en realidad ninguna seguridad de que así ocurra en la práctica.

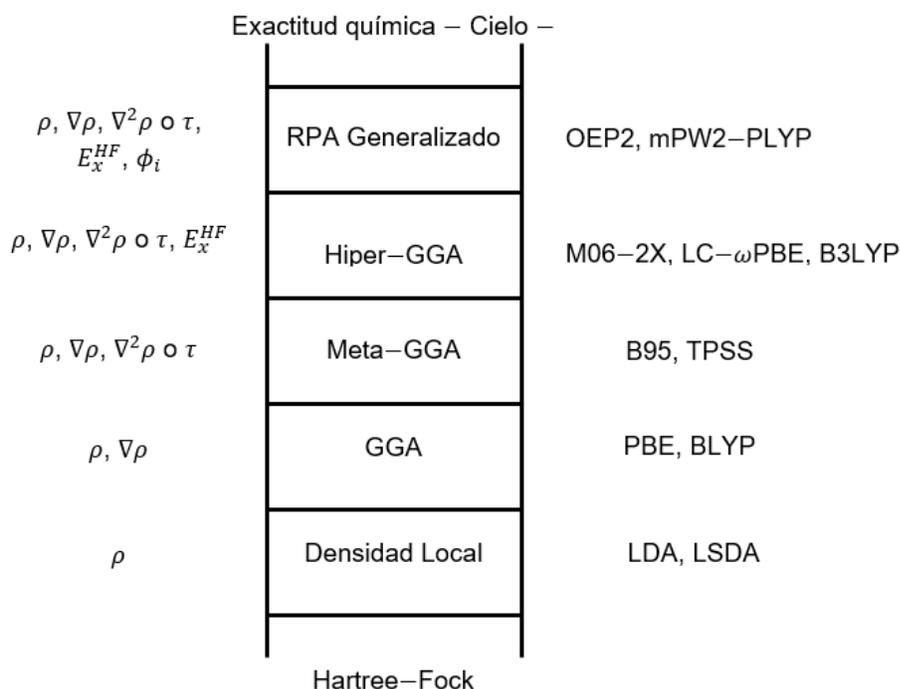
---

<sup>6</sup> I. N. Levine, *Química Cuántica*. 2001, Pearson, Madrid.

<sup>7</sup> J. P. Perdew, K. Schmidt, *AIP Conf. Proc.*, 2001, 577 (1), 1.

<sup>8</sup> A. Vela, *Educación Química*, 2016, 27, 278.

En la *Figura A1* se encuentra una representación de la escalera de Jacob; cada escalón representa una diferente aproximación: del lado izquierdo se encuentran las diferentes variables y del lado derecho algunos ejemplos de funcionales.



**Figura A1.** Clasificación de los funcionales de intercambio y correlación. Aproximación de fase aleatoria (RPA, por sus silgas en inglés), aproximación de gradiente generalizado (GGA, por sus silgas en inglés), aproximación de densidad local (LDA, por sus silgas en inglés), aproximación de densidad de espín local (LSDA, por sus silgas en inglés), densidad electrónica ( $\rho$ ), gradiente de la densidad electrónica ( $\nabla\rho$ ), laplaciano de la densidad electrónica ( $\nabla^2\rho$ ), densidad de energía cinética del orbital ( $\tau$ ), intercambio exacto Hartree – Fock ( $E_x^{HF}$ ) y orbitales virtuales Kohn–Sham ( $\phi_i$ ).

Para el desarrollo del presente trabajo se emplearon los funcionales híbridos hiper-GGA M06-2X<sup>9</sup> y LC- $\omega$ PBE<sup>10</sup> para realizar el estudio de la actividad

<sup>9</sup> Y. Zhao, D. G. Truhlar, *Theor. Chem. Acc.*, **2008**, 120, 215.

<sup>10</sup> O. A. Vydrov, G. E. Scuseria, *J. Chem. Phys.*, **2006**, 125, 234109.

antioxidante secundaria y la actividad pro-oxidante de tiofenoles, respectivamente. El funcional  $M06-2X$  tiene en cuenta el 54% de  $E_x^{HF}$ , depende de las variables  $\rho$ ,  $\nabla\rho$  y  $\tau$ , y se encuentra parametrizado únicamente para no metales (33 parámetros optimizados)<sup>9</sup>. Sus creadores lo recomiendan para cálculos de termoquímica, cinética, interacciones no covalentes y estados excitados de especies del grupo principal<sup>9</sup>. Por otro lado, el funcional  $LC-\omega PBE$  hace una separación de rango en el componente de intercambio. Está corregido para interacciones de largo alcance y toma en consideración un solo parámetro empírico,  $\omega = 0.04 \text{ bohr}^{-1}$ . Se encuentra combinado con el funcional  $PBE$  para considerar el corto alcance. Sus creadores han encontrado que para cálculos de termoquímica, energías de activación, longitudes de enlace y transferencia de carga, brinda buenos resultados<sup>10</sup>.

## A2. Funciones de base

Las funciones de base son un conjunto de funciones matemáticas cuyas combinaciones lineales dan como resultado una representación de los orbitales moleculares de un sistema químico<sup>5,11</sup>.

En un sentido matemático, se podrían emplear varios tipos de funciones de base, por lo que se han sugerido muchas opciones, sin embargo, solo dos tipos de éstas son las que se usan comúnmente: los *orbitales tipo Slater* ( $STO$ , por sus siglas en inglés) y los *orbitales tipo gaussiano* ( $GTO$ , por sus siglas en inglés)<sup>12</sup>. Estos orbitales moleculares o funciones de base generalmente están centrados sobre un núcleo atómico y se encuentran normalizados. Los  $STO$   $1s$  normalizados y centrados en  $R_A$  tienen la forma (*Ecuación 7*):

---

<sup>11</sup> G. Cuevas, F. Cortés, *Introducción a la Química Computacional*. 2003, Fondo de Cultura Económica, México.

<sup>12</sup> A. Szabo, N. S. Ostlund, *Modern Quantum Chemistry. Introduction to Advanced Electronic Structure Theory*. 1996, Dover Publications Inc., New York.

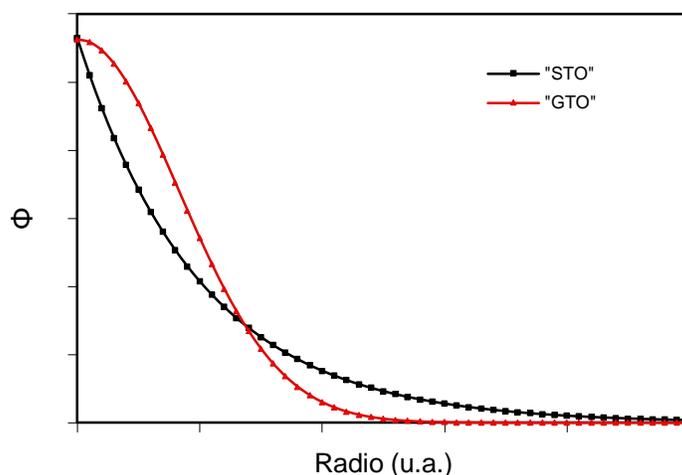
$$\phi_{1s}^{SF}(\zeta, r - R_A) = \left(\frac{\zeta^3}{\pi}\right)^{1/2} e^{-\zeta|r-R_A|} \quad (7)$$

donde  $\zeta$  es el exponente orbital de Slater. Por otro lado, los *GTO 1s* normalizados y centrados en  $R_A$  tienen la forma (Ecuación 8):

$$\phi_{1s}^{GF}(\alpha, r - R_A) = \left(\frac{2\alpha}{\pi}\right)^{3/4} e^{-\alpha|r-R_A|^2} \quad (8)$$

donde  $\alpha$  es el exponente orbital gaussiano. Estos exponentes orbitales son números positivos mayores a cero y determinan la difusividad o tamaño de la función de base: a mayor valor, menos difusa será la función mientras que a menor valor, la función será más difusa<sup>12</sup>.

Entre las diferencias más importantes entre este tipo de orbitales se encuentran en la parte exponencial,  $e^{-\zeta r}$  y  $e^{-\alpha r^2}$ : 1) cuando  $r \rightarrow 0$  la función de Slater tiene una pendiente finita mientras que la función gaussiana tiene una pendiente igual a cero y 2) a valores grandes de  $r$ , la función gaussiana decae mucho más rápido que la función de Slater<sup>12</sup> (Figura A2).



**Figura A2.** Comportamiento de las funciones *STO* y *GTO*<sup>13</sup>.

<sup>13</sup> A. L. Magalhães, *J. Chem. Educ.*, **2014**, 91, 2124.

Si bien para el desarrollo de cálculos que emplean la función de onda el uso de funciones tipo Slater serían más adecuado ya que describen mejor las propiedades de los orbitales moleculares y se necesitan menos de éstas para alcanzar el mismo nivel de aproximación, en la práctica mayoritariamente se emplean las tipo gaussianas ya que la evaluación analítica de las integrales bieletrónicas es menos complicada y por tanto, consumen menos tiempo y recursos computacionales<sup>11,12</sup>.

Aunque las funciones gaussianas no son las óptimas desde el punto de vista de la representación física, la solución al problema se tiene al obtener orbitales tipo Slater utilizando combinaciones lineales de funciones gaussianas preestablecidas, conocidas como funciones primitivas. Esta combinación lineal permite obtener funciones denominadas gaussianas contraídas. A este procedimiento se le denomina *STO - NG*, donde *N* indica el número de funciones gaussianas necesarias para aproximarse a una función tipo Slater<sup>12</sup>.

Con base en lo anterior, el factor más importante que se debe considerar en la elección de un conjunto de base es el número de funciones y la precisión deseada. La base más pequeña disponible se denomina base mínima. Los conjuntos de base mínima contienen el menor número de funciones necesarias para representar todos los electrones de un átomo y mantener la simetría esférica<sup>3</sup>. El *STO - 3G* es un conjunto de base mínima que usa tres funciones gaussianas primitivas para representar cada orbital atómico de tipo Slater.

Una base mínima permite hacer cálculos rápidos de átomos y moléculas pero la precisión no es buena, por lo tanto, el doblar o triplicar el número de funciones base de una función mínima, introduce una mejora<sup>3</sup>. Estas funciones son conocidas como doble zeta (*DZ*), triple zeta (*TZ*), cuádruple zeta (*QZ*) y quintuple zeta (*5Z*).

Considerando que los electrones internos no participan en el enlace químico, es que las funciones asociadas a dicho electrones no se aumentan pero para describir los electrones de valencia es muy común que las funciones se aumenten.

Con base en lo anterior es que Pople y colaboradores<sup>14</sup> desarrollaron los conjuntos de valencia dividida, los cuales, tienen dos o más funciones de base por cada orbital de valencia. Estas funciones se describen de la manera  $k - nlmG$  donde  $k$  indica el número de funciones gaussianas primitivas que se usan para representar a los orbitales internos y los números  $nlm$  representan tanto el número de funciones en que se dividen los orbitales de valencia como la cantidad de funciones gaussianas que son empleadas para su representación. A pesar de que la división de valencia permite cambiar el tamaño de los orbitales, no puede cambiar su forma por lo que es necesario introducir otros conjuntos de base.

Las funciones base generalmente se encuentran centradas en los núcleos, lo cual, limita su flexibilidad para describir las distribuciones electrónicas internucleares. Esta limitación es eliminada usando conjuntos de bases polarizadas, es decir, para cada átomo se añaden funciones con momentos angulares mayores al requerido por el estado basal. Estos conjuntos de bases adicionan funciones tipo  $d$  a las bases de los átomos de la segunda fila de la tabla periódica, de tipo  $f$  a los metales de transición y de tipo  $p$  a los átomos de hidrógeno<sup>11</sup>.

Por otro lado, la incorporación de funciones difusas permite a los orbitales decaer más lentamente lo que brinda una mejor descripción de la parte final de la función de onda, por lo cual, los electrones que se encuentran distantes del núcleo son mejor descritos. Estas funciones son básicas para representar apropiadamente aniones, moléculas con pares electrónicos no compartidos, estados excitados, moléculas con elevada carga negativa, sistemas con potenciales de ionización bajos, etc<sup>11</sup>.

Para el desarrollo del presente trabajo, todos los cálculos se realizaron usando la base  $6-31++G(d,p)$ , la cual, es una base  $DZ$  de valencia dividida donde los electrones internos se representan como el producto de la contracción de seis gaussianas primitivas, seguidas de dos funciones de base de tamaños diferentes para representar cada orbital de valencia. La primera parte de los orbitales de

---

<sup>14</sup> J. S. Binkley, J. A. Pople, W. J. Hehre, *J. Am. Chem. Soc.*, **1980**, 102 (3), 939.

valencia es el producto de la contracción de tres gaussianas primitivas, mientras que la segunda se representa mediante la contracción de una. Además, tiene funciones difusas en átomos pesados y ligeros (++) y funciones polarizadas (un orbital *d* para describir a los átomos pesados y un orbital *p* para los hidrógenos).

### A3. Análisis poblacional

La asignación de cargas atómicas o de órdenes de enlace implica el cálculo del número de electrones que pertenecen a cada átomo o que se encuentran compartidos entre ellos. Dichos cálculos son conocidos como análisis de población<sup>5</sup>.

Cuando un electrón pasa a formar parte de un *orbital molecular (OM)*, producto de la combinación lineal de *orbitales atómicos (OA)*, determinar qué tanto de él pertenece a un átomo o a otro resulta arbitrario, sin embargo, los análisis de población han resultado ser herramientas útiles para el estudio de mecanismos de reacción. En el presente trabajo se recurre al análisis poblacional de Mulliken para determinar las cargas atómicas y al de Hirshfeld para determinar las densidades de espín.

Uno de los esquemas de partición más utilizados en los cálculos de cargas atómicas es el de Mulliken<sup>15</sup>. De acuerdo a este esquema, la carga atómica neta,  $q_A$ , se puede calcular como lo indica la *Ecuación (9)*:

$$q_A = Z_A - N_A \quad (9)$$

donde  $Z_A$  es el número atómico del átomo *A* y  $N_A$  es el número de electrones asociado al átomo *A*. Para asignar el número de electrones, se consideran todas las contribuciones de las funciones base (*OA*) centradas en el átomo *A* más las contribuciones debidas al traslape –repartidas equitativamente entre los dos átomos—<sup>3-6</sup>. Si bien este esquema es sencillo, presenta algunos inconvenientes

---

<sup>15</sup> R. S. Mulliken, *J. Chem. Phys.*, **1955**, 23 (10), 1833.

como asignar más de dos electrones o un número negativo de electrones por orbital, además de que suele ser sensible a los conjuntos de base<sup>6</sup>.

Por otra parte, el esquema de Hirshfeld se basa en utilizar las densidades electrónicas atómicas para particionar la densidad electrónica molecular<sup>3,16</sup>. Para realizar la partición, primero se define a la densidad promolecular,  $\rho_{promolecula}$ , como la sumatoria de las densidades electrónicas de los átomos libres,  $\rho_A^{densidad\ atómica}$ , en estado basal promediadas esféricamente, *Ecuación (10)*, y posteriormente, la densidad electrónica molecular, sobre cada uno de los puntos entre los átomos que conforman la molécula, se particiona con base a factores de ponderación,  $w_A$ , de acuerdo a las contribuciones promoleculares<sup>3,16</sup>, *Ecuación (11)*.

$$\rho_{promolecula}(r) = \sum_A^{M-\text{átomos}} \rho_A^{densidad\ atómica}(r) \quad (10)$$

$$w_A(r) = \frac{\rho_A^{densidad\ atómica}(r)}{\rho_{promolecula}(r)} \quad (11)$$

Finalmente, la densidad electrónica correspondiente a un átomo enlazado dentro de la molécula,  $\rho_A^{enlazado}$ , queda definida como se presenta en la *Ecuación (12)*:

$$\rho_A^{enlazado} = w_A(r)\rho_{molécula}(r) \quad (12)$$

donde  $\rho_{molécula}$  corresponde a la densidad electrónica molecular definida anteriormente en la *Ecuación (3)*. Al igual que el esquema de Mulliken, el de Hirshfeld es sensible al nivel de teoría (método y base)<sup>3</sup>.

---

<sup>16</sup> F. L. Hirschfeld, *Theor. Chim. Acta*, **1977**, 44 (2), 129.