



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

---

FACULTAD DE QUÍMICA

**ESTUDIO DE LA REACCIÓN DEL ANIÓN  
RADICAL SUPERÓXIDO CON RADICALES DE  
AMINOÁCIDOS DAÑADOS**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**Q U Í M I C A**

PRESENTA

**SAMANTA VARGAS TORRES**



CD.MX.,

2021



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

**JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:** Dr. Lino Joel Reyes Trejo  
**VOCAL:** Dr. Juan Raúl Álvarez Idaboy  
**SECRETARIO:** Dr. Jorge Martín del Campo Ramírez  
**1er. SUPLENTE:** Dra. Martha Verónica Escárcega Bobadilla  
**2° SUPLENTE:** M. en C. Zurisadai Padilla Gómez

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

DEPARTAMENTO DE FÍSICA Y QUÍMICA TEÓRICA, DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO, EDIFICIO B, FACULTAD DE QUÍMICA, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.

**ASESOR DEL TEMA:**

---

DR. JUAN RAÚL ÁLVAREZ IDABOY

**SUSTENTANTE (S):**

---

SAMANTA VARGAS TORRES

*A mis papás, Pao, John y amigos...*

## ***Agradecimientos***

*A Maricela Torres Ávila y Fortino Vargas Salazar, por ser los primeros en enseñarme, por estar para mí incondicionalmente, por siempre impulsarme y apoyarme a seguir adelante, por su comprensión y amor.*

*A Paola Vargas Torres, por siempre escucharme, ayudarme, corregirme, por ser más que una hermana y por todo su amor.*

*A José Jonathan Eugenio Floriano, por todos estos años juntos de invaluable apoyo, comprensión, compañía y amor.*

*Al Dr. Juan Raúl Álvarez Idaboy, por permitirme trabajar en su equipo, por su asesoría, apoyo y paciencia.*

*A la M. en C. Mirzam Andrea Carreón González, por sus enseñanzas, ayuda brindada y por su amistad.*

*A Edson Aldair García García. Oswaldo Alejandro Viviano Posadas, Alejandra García Enríquez, Jacobo Vázquez Santiago, entre otros, por su amistad y compañía durante la carrera.*

*A los miembros de mi jurado, el Dr. Lino Joel Reyes Trejo, el Dr. Jorge Martín del Campo Ramírez, la Dra. Martha Verónica Escárcega Bobadilla y el M. en C. Zurisadai Padilla Gómez, por sus comentarios y aportaciones para la mejora del presente trabajo.*

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

*A la DGTIC por el tiempo de cómputo otorgado en la supercomputadora Miztli para la realización de este proyecto.*

*A la DGAPA-PAPIIT (Proyecto IN223018) por la beca otorgada.*

## Contenido

|  |           |
|--|-----------|
| Índice de Abreviaturas.....  | vii       |
| Índice de Tablas .....   | ix        |
| Índice de Figuras.....   | x         |
| <b>1. Resumen .....</b>  | <b>1</b>  |
| <b>2. Introducción.....</b>  | <b>2</b>  |
| <b>3. Antecedentes .....</b>   | <b>3</b>  |
| 3.1. Radicales libres .....  | 3         |
| 3.2. Estrés oxidativo .....  | 4         |
| 3.2.1. Radicales libres derivados del oxígeno.....                   | 5         |
| 3.2.1.1. Oxígeno singulete.....                                      | 6         |
| 3.2.1.2. Anión radical superóxido .....                              | 7         |
| 3.2.1.3. Peróxido de hidrógeno.....                                  | 8         |
| 3.2.1.4. Radical hidroxilo .....                                     | 9         |
| 3.2.2. Efecto nocivo .....   | 10        |
| 3.2.2.1. Daño a proteínas .....                                      | 11        |
| 3.2.2.2. Espectroscopia de resonancia paramagnética electrónica..... | 12        |
| 3.3. Antioxidantes .....   | 13        |
| 3.3.1. Mecanismos antioxidantes.....                                 | 13        |
| 3.4. Aminoácidos.....  | 14        |
| 3.4.1. Enlace peptídico .....  | 16        |
| <b>4. Hipótesis y objetivos.....</b>                                 | <b>19</b> |
| 4.1. Hipótesis.....  | 19        |
| 4.2. Objetivo general .....  | 19        |
| 4.3. Objetivos particulares.....                                     | 19        |
| <b>5. Marco teórico.....</b>   | <b>20</b> |
| 5.1. Química computacional .....                                     | 20        |
| 5.2. Química cuántica.....   | 21        |
| 5.2.1. Ecuación de Schrödinger .....                                 | 21        |
| 5.2.2. Aproximación de Born-Oppenheimer .....                        | 22        |
| 5.2.3. Método Hartree-Fock .....                                     | 24        |
| 5.2.4. Conjunto de funciones de base.....                            | 27        |
| 5.2.5. Teoría de funcionales de la densidad .....                    | 31        |
| 5.2.5.1. Teoremas de Hohenberg y Kohn.....                           | 32        |

|           |  |           |
|-----------|--|-----------|
| 5.2.5.2.  | Método de Kohn y Sham .....                                    | 34        |
| 5.2.5.3.  | Aproximaciones al funcional de intercambio y correlación ..... | 36        |
| 5.2.6.    | Superficie de energía potencial.....                           | 38        |
| 5.2.7.    | Efecto del disolvente y termodinámica.....                     | 40        |
| 5.2.7.1.  | Modelo de solvente continuo .....                              | 42        |
| 5.2.8.    | Dinámica de las reacciones químicas.....                       | 43        |
| 5.2.8.1.  | Teoría del estado de transición .....                          | 45        |
| 5.2.8.2.  | Teoría de Marcus.....  | 48        |
| 5.2.8.3.  | Reacciones controladas por difusión .....                      | 50        |
| <b>6.</b> | <b>Metodología .....</b>                                       | <b>52</b> |
| <b>7.</b> | <b>Resultados y discusión .....</b>                            | <b>56</b> |
| 7.1.      | Equilibrios ácido-base .....                                   | 58        |
| 7.2.      | Geometrías moleculares .....                                   | 59        |
| 7.3.      | Estudio termodinámico.....                                     | 65        |
| 7.4.      | Estudio cinético .....   | 69        |
| <b>8.</b> | <b>Conclusiones.....</b>                                       | <b>74</b> |
| <b>9.</b> | <b>Bibliografía.....</b>                                       | <b>76</b> |

## Índice de Abreviaturas

|         |  |
|---------|--|
| ADL     | <i>Aproximación local de densidad</i>  |
| AFA     | <i>Aproximación de fase aleatoria</i>  |
| AGG     | <i>Aproximación de gradiente generalizado</i>                                    |
| ALDE    | <i>Aproximación local de densidad de espín</i>                                   |
| Arg     | <i>Arginina</i>  |
| Asn     | <i>Asparagina</i>  |
| ATP     | <i>Adenosín trifosfato</i>   |
| Cys     | <i>Cisteína</i>  |
| EO      | <i>Estrés oxidativo</i>  |
| ERO     | <i>Especies reactivas de oxígeno</i>   |
| ET      | <i>Estado de transición</i>  |
| Gln     | <i>Glutamina</i>   |
| Gly     | <i>Glicina</i>   |
| HAT     | <i>Transferencia de hidrógeno</i>  |
| HF      | <i>Hartree-Fock</i>  |
| His     | <i>Histidina</i>   |
| KS      | <i>Kohn-Sham</i>   |
| Lys     | <i>Lisina</i>  |
| Met     | <i>Metionina</i>   |
| OA      | <i>Orbitales atómico</i>   |
| OM      | <i>Orbitales moleculares</i>   |
| OTG     | <i>Orbitales tipo gaussiano</i>  |
| OTS     | <i>Orbitales tipo Slater</i>   |
| Oxy     | <i>Oxígeno</i>   |
| Phe     | <i>Fenilalanina</i>  |
| Pro     | <i>Prolina</i>   |
| QM-ORSA | <i>Quantum mechanics based test for overall free radical scavenging activity</i> |
| REE     | <i>Resonancia de espín electrónica</i>   |
| RL      | <i>Radical libre</i>   |

|      |  |
|------|--|
| RPE  | <i>Resonancia paramagnética electrónica</i>        |
| SCF  | <i>Campo autoconsistente</i>                       |
| SCRf | <i>Campo de reacción autoconsistente</i>           |
| SEP  | <i>Superficie de energía potencial</i>             |
| Ser  | <i>Serina</i>                                      |
| SET  | <i>Transferencia de un solo electrón</i>           |
| SMD  | <i>Modelo de solvatación basado en la densidad</i> |
| SOD  | <i>Superóxido dismutasa</i>                        |
| TE   | <i>Transferencia electrónica</i>                   |
| TET  | <i>Teoría del estado de transición</i>             |
| TFD  | <i>Teoría de los funcionales de la densidad</i>    |
| Thr  | <i>Treonina</i>                                    |
| Trp  | <i>Triptófano</i>                                  |
| Tyr  | <i>Tirosina</i>                                    |

## Índice de Tablas

|  |    |
|--|----|
| Tabla 3-1. Lista de especies reactivas de oxígeno producidas durante el metabolismo <sup>20</sup> .....  | 5  |
| Tabla 3-2. Constantes de velocidad para la reacción de HO• con macromoléculas biológicas y antioxidantes <sup>46,47</sup> .....                          | 11 |
| Tabla 3-3. Propiedades y convenciones asociadas con los aminoácidos comunes encontrados en las proteínas <sup>63</sup> .....                             | 15 |
| Tabla 5-1. Frecuencia y minimización de la energía <sup>90</sup> .....   | 40 |
| Tabla 5-2. Tipos de modelos de solvatación <sup>97</sup> .....   | 41 |
| Tabla 6-1. Radicales libres de aminoácidos.....  | 52 |
| Tabla 7-1. $G^\circ$ para los péptidos radicales en cada geometría propuesta. ....   | 60 |
| Tabla 7-2. Geometrías optimizadas y estables para cada reactivo y producto .....   | 61 |
| Tabla 7-3. $G^\circ$ y $E$ para cada una de las especies involucradas en las reacciones  | 66 |
| Tabla 7-4. $\Delta G^\circ_{rxn}$ , $\Delta E_{vertical}$ , $\lambda$ y $\Delta \ddagger G^\circ$ para la reparación de los modelos de tripéptidos ..... | 67 |
| Tabla 7-5. Factor exponencial y $kTET$ para las reacciones propuestas.....   | 71 |
| Tabla 7-6. Radio, $D$ , $DAB$ , $R$ y $kD$ para las reacciones exergónicas.....  | 72 |
| Tabla 7-7. Constantes de velocidad corregidas para las reacciones termodinámicamente favorecidas .....   | 73 |

## Índice de Figuras

|   |    |
|---|----|
| Figura 3-1. Reducción de $O_2$ a $H_2O$ durante la respiración aerobia y el potencial redox estándar de cada intermediario <sup>17</sup> .....  | 6  |
| Figura 3-2. Sitios celulares de la generación de $O_2\bullet -^{17}$ .....  | 8  |
| Figura 3-3. Diagramas de orbital molecular de ERO's (tomado y modificado de 30) .....   | 10 |
| Figura 3-4. a) Forma estructural general de los aminoácidos hallados en las proteínas y b) Configuración de los estereoisómeros de la Alanina <sup>65</sup> .....   | 15 |
| Figura 3-5. Especies iónicas principales de los aminoácidos comunes <sup>65</sup> .....   | 16 |
| Figura 3-6. Formación de un enlace peptídico <sup>65</sup> .....  | 16 |
| Figura 3-7. Ángulos diedros <sup>67</sup> , configuración del enlace peptídico <sup>64</sup> y diagrama de Ramachandran <sup>68</sup> .....   | 17 |
| Figura 5-1. La química computacional y su relación con otras disciplinas <sup>73</sup> .....  | 20 |
| Figura 5-2. OTG, OTGC y OTS para el orbital 1s del átomo de hidrógeno <sup>81</sup> .....   | 29 |
| Figura 5-3. Acción de las funciones de polarización: (a) s polarizada por p; (b) p polarizada por s; (c) s polarizada por d; (d) p polarizada por d <sup>83</sup> .....   | 30 |
| Figura 5-4. Diagrama de flujo del cálculo con teoría de los funcionales de la densidad <sup>70</sup> .....  | 35 |
| Figura 5-5. Escalera de Jacob para los funcionales de intercambio y correlación escritos por sus siglas <sup>77,87,94</sup> .....   | 37 |
| Figura 5-6. Superficie de energía potencial en 3D <sup>90</sup> .....   | 39 |
| Figura 5-7. Representación de las curvas de energía potencial en la TET para una a) reacción exergónica y una b) reacción endergónica.....  | 47 |
| Figura 5-8. Diagramas de coordenadas de reacción de transferencia electrónica usados en la teoría de Marcus para a) el caso más simple, b) región normal, c) sin activación y d) región invertida (tomado y modificado de 86) ..... | 49 |
| Figura 6-1. Mecanismo de transferencia electrónica general para la reparación de fragmentos de proteína (R corresponde a la cadena de cada uno de los aminoácidos).....   | 54 |
| Figura 6-2. Conformaciones generales utilizadas en los cálculos, donde R representa tanto al radical libre como el residuo de aminoácido reparado ....  | 54 |

|  |    |
|--|----|
| Figura 7-1. Esquemas de reacción propuestos para la reparación de los modelos de tripéptidos ..... | 58 |
| Figura 7-2. Diagrama de $\alpha$ para $H02\bullet/O2\bullet$ – .....                               | 59 |
| Figura 7-3. Curvas de energía potencial de las reacciones propuestas.....                          | 69 |

## 1. Resumen

---

El oxígeno es un compuesto esencial para la vida de los organismos aerobios, sin embargo, también puede ser tóxico en ciertas condiciones, esto se debe a su capacidad para producir especies reactivas de oxígeno (ERO) que pueden dañar a las macromoléculas cuando hay un exceso en la producción de especies oxidantes que especies antioxidantes. Estudios recientes muestran que el radical superóxido y su ácido conjugado el radical hidroperoxilo pueden reparar radicales dañados de tirosina y triptófano. Por lo que resulta de gran interés comprobar si este par ácido/base puede reparar radicales de otros aminoácidos dañados.

Este trabajo consistió en un estudio teórico de la cinética del proceso de reparación por superóxido de fragmentos de radicales de proteínas debido a estrés oxidativo, mediante la transferencia de un electrón en solución acuosa a pH fisiológico (pH=7.4). Para ello se utilizaron la Teoría de los Funcionales de la Densidad y la Teoría de Marcus. Se emplearon once aminoácidos para los fragmentos de las cadenas de las proteínas: glicina, alanina, valina, cisteína, tirosina, serina, treonina, metionina y asparagina.

Cada especie se optimizó utilizando el método M062x/6-311+G(d,p), haciendo uso del modelo de solvatación SMD. Primeramente, se realizó un estudio termodinámico, obteniendo las energías libres de reacción para determinar si las reacciones eran favorables; después, se efectuó el estudio cinético donde se calcularon las constantes de velocidad de cada reacción planteada.

Los resultados mostraron que en los casos en los que los fragmentos contienen aminoácidos donde su cadena lateral contiene un heteroátomo, estos pueden ser reparados por el superóxido. En consecuencia, se puede afirmar que el radical anión superóxido se comporta como antioxidante frente a estas especies.

## 2. Introducción

---

Uno de los más grandes retos del ser humano ha sido conservar en buen estado su salud al aumentar la esperanza de vida de la población. Sin embargo, existen factores que pueden perjudicar esta aspiración, uno de los principales es el denominado estrés oxidativo (EO). Se ha relacionado al EO con múltiples enfermedades, por lo que investigaciones acerca de este tema se centran en entender los daños que provoca y contrarrestarlos. Aunque, debido a su complejidad, estudios basados en mecánica cuántica resultan de gran utilidad para abordar este tipo de temas que experimentalmente son complicados y costosos.<sup>1</sup>

Los radicales libres derivados del EO han sido implicados en una serie de fenómenos biológicos que van desde las afecciones patológicas en humanos hasta la senescencia y la respuesta de las heridas en plantas y animales<sup>2,3</sup>. Las especies radicales predominantes en los sistemas biológicos son las derivadas del oxígeno molecular, pero tanto estados excitados no radicales y especies no radicales de oxígeno también pueden provocar daño oxidativo.

El EO implica la formación inicial de una especie de oxígeno activado y su posterior reacción con una macromolécula (proteínas, lípidos, polisacáridos y ácidos nucleicos), y las manifestaciones de este daño son múltiples.<sup>2</sup> No obstante, se sabe que los radicales derivados del oxígeno forman parte de procesos fundamentales de la vida de organismos aerobios, donde el organismo hace frente al EO por medio de los denominados sistemas antioxidantes. El estudio de antioxidantes constituye un tema de investigación relevante ya que se estima que el conocimiento de sus mecanismos de acción podría permitir disminuir los efectos del daño oxidativo.<sup>1,4</sup>

Existen al menos dos principales mecanismos de acción por los cuales los antioxidantes pueden actuar para reparar el daño causado a biomoléculas. Estos mecanismos son la transferencia de un solo electrón (SET) y la transferencia de hidrógeno (HAT), pese a ello, en este estudio solo se tomó en cuenta el primer mecanismo.

### 3. Antecedentes

---

#### 3.1. Radicales libres

Se define como radical libre (RL) a la especie química que contiene uno o más electrones desapareados en su capa electrónica más externa; es capaz de existir independientemente y puede o no tener carga. Se forma por la ganancia o la pérdida de un electrón, o por la ruptura homolítica de una molécula.<sup>5,6</sup> De acuerdo con esta definición son RL: la molécula de oxígeno, el átomo de hidrógeno y metales de transición como hierro, cobre y manganeso.

Los electrones no apareados en estas especies les proporcionan una alta inestabilidad y, por lo tanto, mayor reactividad que su correspondiente especie no radical; de manera que su vida media es corta y su concentración en el estado estacionario es baja, aunque varía dependiendo del RL.<sup>5</sup> Debido a esto, un RL busca estabilizarse apareando su o sus electrones sin par electrónico. Por ende, al encontrarse dos radicales pueden formar un enlace covalente fruto de ambos compartir su electrón desapareado y dejar de ser radicales. No obstante, también un radical puede sustraer un electrón de un compuesto no radical o donar su electrón no apareado para formar un par electrónico. Sin embargo, en estos últimos casos el radical deja de serlo y el compuesto estable se convierte en un RL, ocasionando el inicio de una reacción de propagación en cadena.<sup>7</sup> Es por lo anterior que también se conoce como RL a agentes oxidantes, pese a esto, no todos los agentes oxidantes son RL.

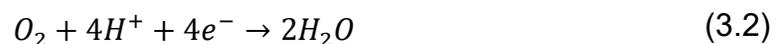
Estas especies existen como resultado de diferentes reacciones, tanto en la atmósfera como en el organismo de los seres vivos, siendo los de mayor importancia biológica los derivados del oxígeno y del nitrógeno. De igual manera, contrario a lo que puede pensarse, los RL no son intrínsecamente malos.<sup>8</sup>

### 3.2. Estrés oxidativo

El oxígeno diatómico ( $O_2$ ) constituye el 21% de la atmósfera terrestre y es producto de la oxidación del agua en las células fotosintéticas durante la fase luminosa de la fotosíntesis:



Además, en los organismos aerobios el dioxígeno es el último aceptor de electrones en la cadena respiratoria. En ella se reduce el  $O_2$  en agua y la energía de esta reacción, proveniente de energía luminosa, es utilizada para formar adenosín trifosfato (ATP) requerido para diversos procesos celulares.<sup>6</sup>



En nuestro organismo más del 95% del oxígeno molecular consumido por nuestras células, es reducido completamente a agua durante la respiración mitocondrial, sin embargo, un pequeño porcentaje del 2-3% se convierte en radicales libres de oxígeno.<sup>6,9-11</sup> Por lo que, a pesar de que el  $O_2$  es vital para los organismos aerobios, también puede llegar a ser tóxico a altas concentraciones debido a que es el iniciador de la producción de ERO y algunas de estas pueden llegar a oxidar a las macromoléculas biológicas; a este hecho se le conoce como “la paradoja del oxígeno”.

El estrés oxidativo fue definido en 1986 por Sies como un desbalance entre equilibrio prooxidante/antioxidante, a favor del primero<sup>12</sup>. Esta condición es producida por un exceso de RL en el organismo, de tal forma que esta alteración puede dar lugar a afectaciones en las macromoléculas biológicas y, por tanto, modificaciones en su función. Bajo ciertas condiciones la velocidad de generación de radicales es mayor a la capacidad de eliminación del organismo, este desajuste puede ser inducido por a) factores endógenos: procesos inflamatorios, lesiones por isquemia, enfermedades crónicas como arterosclerosis y cáncer, estrés físico o mental, envejecimiento, infecciones, ejercicio físico extenuante, activación de células inmunitarias, oxidación catalizada por metales y debido a procesos fisiológicos normales; y b) factores exógenos: exposición a la contaminación ambiental, humo de cigarrillos, alcohol, metales pesados o de transición, ciertas drogas, radiación ionizante o UV, etc.<sup>4,13-16</sup>

### 3.2.1. Radicales libres derivados del oxígeno

El O<sub>2</sub> en su estado fundamental tiene dos orbitales 2π\* semillenos, por lo que es considerado un birradical.<sup>5,6,16-18</sup> Los dos electrones no apareados le dan al oxígeno un número cuántico de espín de uno (S = 1), y una multiplicidad de espín de tres (2S + 1 = 3), dicho de otra manera, el dióxigeno es una molécula triplete (<sup>3</sup>Σ<sub>g</sub><sup>-</sup>).<sup>17</sup> A pesar de este hecho, la reactividad de esta molécula es más baja que la que se esperaría para un RL.<sup>17,19</sup>

La reducción secuencial y univalente de la molécula de oxígeno, es decir, la adición sucesiva de electrones a esta molécula ocasiona la producción de especies parcialmente reducidas de oxígeno o las también llamadas ERO.<sup>5,6</sup> Las ERO son especies que contienen oxígeno. Existen varias especies reactivas de oxígeno, tanto radicales como no radicales, sin embargo, las más importantes son el oxígeno singulete (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>), el radical hidroxilo, el anión radical superóxido (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) y el peróxido de hidrógeno. En la siguiente tabla se muestra una lista con varias ERO, sus símbolos y vidas medias.

Tabla 3-1. Lista de especies reactivas de oxígeno producidas durante el metabolismo<sup>20</sup>

| <i>Especie reactiva</i>       | <i>Símbolo</i>                             | <i>Vida media</i>  |
|-------------------------------|--|--------------------|
| <i>Radicales</i>              |  |                    |
| <i>Superóxido</i>             | O <sub>2</sub> <sup>•-</sup>               | 10 <sup>-6</sup> s |
| <i>Radical hidroxilo</i>      | HO•  | 10 <sup>-9</sup> s |
| <i>Radical peroxilo</i>       | ROO•                                       | 17 s               |
| <i>Radical alcoxilo</i>       | RO•  | 10 <sup>-6</sup> s |
| <i>No radicales</i>           |  |                    |
| <i>Peróxido de hidrógeno</i>  | H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>              | Estable            |
| <i>Ácido hipocloroso</i>      | HOCl                                       | Estable (min)      |
| <i>Ácido hipobromoso</i>      | HOBr                                       | Estable (min)      |
| <i>Oxígeno singulete</i>      | <sup>1</sup> Δ <sub>g</sub> O <sub>2</sub> | 10 <sup>-6</sup> s |
| <i>Ozono</i>                  | O <sub>3</sub>                             | s                  |
| <i>Hidroperóxido orgánico</i> | ROOH                                       | Estable            |

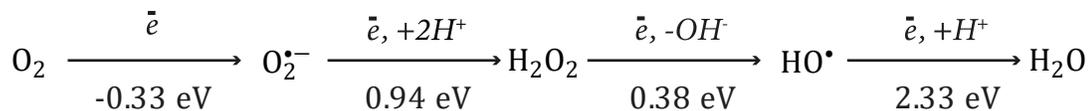
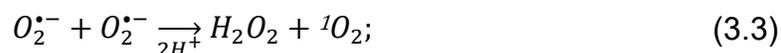


Figura 3-1. Reducción de  $O_2$  a  $H_2O$  durante la respiración aerobia y potencial redox estándar de cada intermediario<sup>17</sup>

### 3.2.1.1. Oxígeno singulete

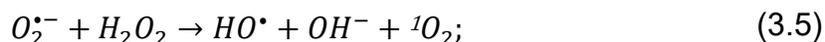
Cuando uno de los dos electrones sin par electrónico en el  $O_2$  capta energía este electrón invierte su espín dando origen a dos formas de oxígeno singulete ( $^1O_2$ ). La primera de estas formas es el oxígeno singulete delta ( $^1\Delta_g O_2$ ) donde sus dos electrones se encuentran en el mismo orbital  $2\pi^*$  apareados, por lo que no es un RL; mientras que la otra forma de oxígeno singulete es la sigma ( $^1\Sigma_g^+ O_2$ ) donde al igual que en la forma delta los electrones sin par se encuentran con el giro opuesto, sin embargo, en esta ocasión cada uno de los electrones se localizan en un orbital  $2\pi^*$  distinto, por lo que esta especie por definición es un RL.<sup>2,5,6,11,17,18</sup> El oxígeno singulete en su forma  $\Delta$  posee una energía de 23.4 kcal/mol, en cambio, en la forma  $\Sigma$  tiene una energía de 37.5 kcal/mol.<sup>17</sup> La forma  $\Delta$  es la de mayor importancia biológica ya que su vida media es mayor, de manera que puede reaccionar o decaer al estado basal emitiendo un fotón a 1,268 nm;<sup>11</sup> por el contrario, la forma  $\Sigma$  es muy inestable y decae rápidamente a la forma  $\Delta$  antes de poder reaccionar. La formación de esta especie toma importancia cuando se consideran reacciones fotoquímicas.<sup>21</sup> Una fuente importante en los sistemas biológicos es la formación a partir de  $O_2^{\bullet -}$ , por desproporción espontánea:



por transferencia electrónica:



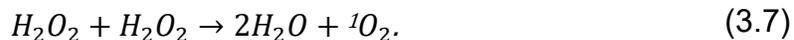
a través de una reacción con  $H_2O_2$ :



por medio de una reacción con  $OH^{\bullet}$ :

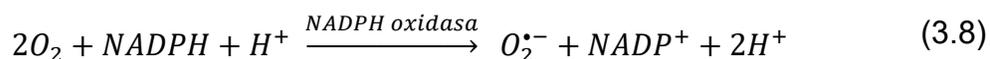


o por dismutación espontánea de  $H_2O_2$ :<sup>2</sup>



### 3.2.1.2. Anión radical superóxido

El ion radical superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ) es producido cuando un electrón entra a uno de los orbitales  $2\pi^*$  de la molécula de oxígeno, es decir, cuando esta es reducida.<sup>6,18,21,22</sup> Esta reacción puede ocurrir en casi todas las células aerobias. Los sitios de generación de esta especie en las células se muestran en la Figura 3-2. Normalmente las principales fuentes de  $O_2^{\bullet-}$  son: a) la mitocondria, debido a fuga de electrones en la cadena de transporte de electrones donde del 1-3% de  $O_2$  se convierte en superóxido; b) citocromo p-450, componente terminal del sistema monooxigenasa que se encuentra dentro del retículo endoplasmático y donde se utiliza oxígeno molecular; c) oxidasas citoplasmáticas, donde se produce una serie de reacciones de reducción para la generación de energía, esta se muestran en la Figura 3-1; y en d) membrana NADPH oxidasa<sup>17</sup>, ya que participa en la descarga respiratoria de las células fagocíticas debido a eventos inmunológicos, puesto que al activarse estas células el complejo enzimático NADPH oxidasa reduce parcialmente al oxígeno formando así el superóxido:<sup>6,17</sup>



Por otro lado, la reactividad de esta especie varía según el entorno donde se encuentre. En solución acuosa, es un agente oxidante débil y se le ha implicado como el precursor de  $Cu^{3+}$  y  $Fe^{4+}$ , los cuales son oxidantes fuertes y pueden estar involucrados en el daño oxidativo de moléculas biológicas.<sup>17</sup> Pese a lo anterior es un agente reductor fuerte y es capaz de reducir complejos de hierro.<sup>21</sup> También, es moderadamente reactiva pero inestable en soluciones acuosas a pH neutro ya que reacciona consigo misma como se ve en la ecuación (3.3), esta reacción tiene una constante de velocidad del orden de  $10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ;<sup>23</sup> mientras que la misma reacción puede ser catalizada por la enzima superóxido dismutasa (SOD)<sup>24</sup> con una constante de velocidad de  $1-2 \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ .<sup>25</sup> Con lo anterior se podría pensar que el  $O_2^{\bullet-}$  es consumido por esta última reacción, pero el superóxido puede reaccionar con el óxido nítrico a una velocidad aún mayor de aproximadamente  $1 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ,<sup>25</sup> como en la reacción mostrada a continuación:



siendo estas dos las principales vías de consumo del superóxido. De igual manera, como ya se ha visto, su toxicidad se debe al hecho de que puede iniciar reacciones que den lugar a otros intermediarios reactivos como se mostró en la Figura 3-1.

Adicionalmente, este radical se encuentra en equilibrio con su ácido conjugado el radical hidroperoxilo ( $HO_2^{\bullet}$ ), por lo que en ambientes ácidos el radical superóxido puede ser protonado a pH bajo para formar el radical  $HO_2^{\bullet}$ , quien es un oxidante mucho más poderoso que el  $O_2^{\bullet-}$ , sin embargo, a pH de 7.4 se encuentra presente en un 0.3%.<sup>26</sup>

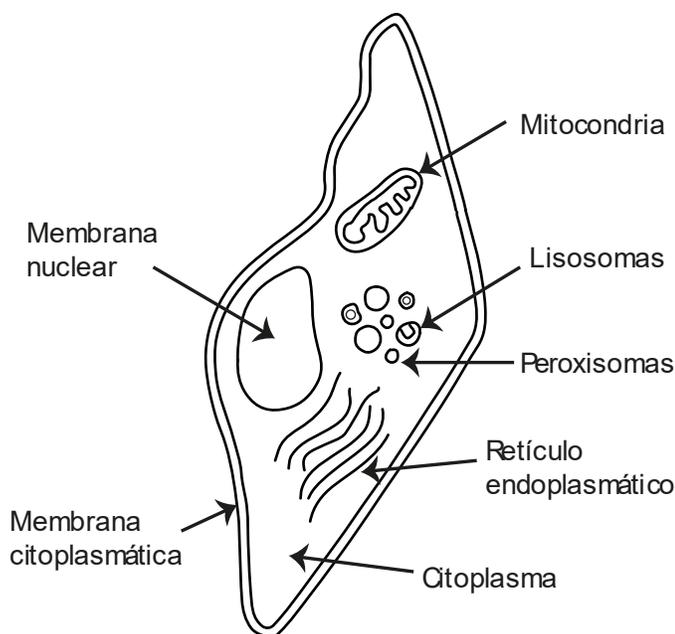
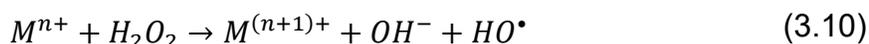


Figura 3-2. Sitios celulares de la generación de  $O_2^{\bullet-}$ <sup>17</sup>

### 3.2.1.3. Peróxido de hidrógeno

El  $H_2O_2$  es obtenido de la segunda reducción univalente del oxígeno<sup>7,27</sup>; es una ERO de baja reactividad, estable, neutra, que no es RL, puesto que sus orbitales están llenos.<sup>7,28,29</sup> Es un agente oxidante débil y un agente reductor débil<sup>21</sup>, como se puede ver en la Figura 3-1, es relativamente estable en presencia de metales de transición y puede reaccionar con algunos como en la siguiente ecuación:



donde  $M^{n+} = Cu^+, Fe^{2+}, Ti^{3+}, Co^{2+}$  y  $M^{(n+1)+} = Cu^{2+}, Fe^{3+}, Ti^{4+}, Co^{3+}$ , respectivamente. Esta reacción de  $H_2O_2$  con metales de transición, normalmente hierro o cobre, es conocida como reacción de Fenton.<sup>17</sup>

La mayor parte de peróxido de hidrógeno generada en la célula proviene principalmente de la desproporción espontánea del  $O_2^{\bullet-}$ , esta reacción es mostrada en la ecuación (3.3) y es catalizada por la enzima SOD.<sup>2,6,7,20,21,24,27</sup> Además, esta especie tiene una larga vida media y atraviesa con facilidad membranas celulares hidrófobas debido a su alta lipofilicidad muy parecida a la del  $H_2O$ <sup>21,29</sup>; por lo que dentro reacciona con el  $O_2^{\bullet-}$ , en presencia de metales de transición, y produce el radical hidroxilo ( $HO^{\bullet}$ ) como se ve en la ecuación (3.5).<sup>20,29</sup> A esta reacción catalizada por hierro en estado de oxidación (III) se le conoce como la reacción de Haber-Weiss.<sup>6,7,17,18,22</sup> El peróxido de hidrógeno no deseado se elimina de las células mediante la acción de enzimas como la catalasa, el glutatión peroxidasa (que contiene selenio) y otras peroxirredoxinas.<sup>20,21</sup>

#### 3.2.1.4. Radical hidroxilo

El  $HO^{\bullet}$  es la forma neutra del ión hidróxido<sup>20</sup>, es un RL altamente reactivo y tiene la vida media más corta en comparación con las otras ERO, como se observa en la Tabla 3-1, por lo que reacciona cerca de su sitio de formación y es considerada una de las especies oxidantes más dañinas<sup>6,17</sup>, ya que su vida media es consecuencia de la inestabilidad de su configuración electrónica y por lo tanto más rápido captará los electrones de otras moléculas.<sup>29</sup>

Es producto de la reducción por tres electrones de la molécula de  $O_2$  y es resultado importante de la ionización a alta energía del agua (radiólisis).<sup>21</sup> También puede ser producido por fisión homolítica del enlace O-O en  $H_2O_2$  mediante calor o radiación ionizante. De igual manera, como ya se ha mencionado, se puede formar esta especie por la reacción entre  $H_2O_2$  y  $O_2^{\bullet-}$  catalizada por hierro en la reacción de Haber-Weiss de la ecuación (3.5) y en la reacción de  $H_2O_2$  con sales de hierro o cobre en la reacción de Fenton de la ecuación (3.10).<sup>6,17-20,29,30</sup>

Esta especie al ser un oxidante extremadamente agresivo puede atacar a la mayoría de las moléculas biológicas a una velocidad casi controlada por difusión.<sup>21</sup>

Principalmente el radical hidroxilo puede reaccionar por 3 tipos de mecanismos de reacción: sustracción de átomos de hidrógeno (por ejemplo, metanol); adición de elementos a un anillo aromático (por ejemplo, ADN); y transferencia de electrones (por ejemplo, cloro).<sup>17,18,27,29</sup>

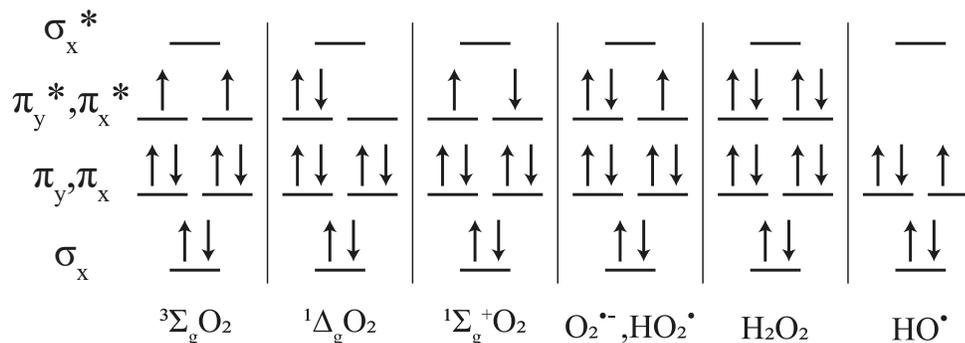


Figura 3-3. Diagramas de orbital molecular de ERO's (tomado y modificado de 30)

### 3.2.2. Efecto nocivo

Especies oxidantes, como lo son las ERO, reaccionan con prácticamente todas las moléculas biológicas presentes en nuestro cuerpo (ADN, ARN, colesterol, lípidos, carbohidratos, proteínas y antioxidantes), provocando en estas modificaciones que pueden afectar o deteriorar las funciones celulares e incluso conducir a muerte celular, lo que eventualmente origina diferentes enfermedades.<sup>6,10,29-38,13,39-45,15,17-20,27,28</sup>

El daño provocado por oxidantes a objetivos particulares depende de factores tales como la concentración del objetivo, la constante de velocidad para la reacción del oxidante con el objetivo, la ubicación del objetivo cuando se compara con el sitio de formación del oxidante, la aparición de eventos secundarios dañinos (reacciones en cadena), la ocurrencia de reacciones de transferencia (intra e inter molecular) y la posibilidad de reparación y reacciones de descomposición de oxidantes. Siendo los dos primeros factores quienes determinan la velocidad a la que es probable que ocurra cualquier reacción particular mientras que los demás modulan el grado de reacción que se produce. Adicionalmente, las proteínas comprenden los componentes principales de la mayoría de los sistemas biológicos, ya sea a nivel tisular, celular o de fluido biológico; y al ser mayor su predominio sobre los demás

componentes son un objetivo importante para especies oxidantes. Prueba de lo anterior es que las constantes de velocidad para la reacción del HO• con macromoléculas varían poco y, por lo tanto, la velocidad de reacción general será impulsada, principalmente, por la concentración del objetivo. También, cuando estas constantes de velocidad se comparan con las de antioxidantes biológicamente relevantes (Tabla 3-2) se puede observar que hay poca diferencia entre ellas, por lo que, estos datos resaltan la dificultad de diseñar estrategias antioxidantes que puedan competir con éxito contra el daño a objetivos biológicos, puesto que la mayoría de los antioxidantes están presentes en concentraciones micromolares, en comparación con las concentraciones milimolares de estos objetivos.<sup>46,47</sup>

*Tabla 3-2. Constantes de velocidad para la reacción de HO• con macromoléculas biológicas y antioxidantes<sup>46-48</sup>*

| <i>Blanco</i>  | <i>Constante de velocidad<br/>(M<sup>-1</sup>s<sup>-1</sup>)</i> |
|--|--|
| ADN  | 8x10 <sup>8</sup>  |
| ARN  | 1x10 <sup>8</sup>  |
| Ácido hialurónico                                    | 7x10 <sup>8</sup>  |
| Ácido linoleico                                      | 9x10 <sup>9</sup>  |
| Albúmina   | 8x10 <sup>10</sup>   |
| Ascorbato  | 1x10 <sup>10</sup>   |
| GSH  | 1.4x10 <sup>10</sup>   |
| Trolox C (soluble en agua<br>análogo de α-tocoferol) | 6.9x10 <sup>9</sup>  |

### 3.2.2.1. Daño a proteínas

Las proteínas son objetivos críticos del EO ya que la modificación oxidativa de esta macromolécula puede causar: la pérdida de la actividad catalítica de enzimas; cambios en su estructura primaria, provocando variación o déficit de algunos aminoácidos, agregación y fragmentación de proteínas; cambios en su estructura secundaria y terciaria que producen una alteración en la solubilidad y carga; o interrumpir la regulación de las vías metabólicas.<sup>4,6,27,29,40,49</sup>

Los radicales se someten a una variedad de reacciones, que incluyen abstracción de hidrógeno, transferencia de electrones, adición, fragmentación y reordenamiento, dimerización, desproporción y sustitución con aminoácidos,

péptidos y proteínas. En general, como ya se ha mencionado, los radicales más reactivos tienden a ser los menos selectivos, mientras que los oxidantes menos reactivos son mucho más selectivos al sitio donde oxidan.<sup>48</sup> Todos los aminoácidos presentes en las proteínas tienen residuos susceptibles de ser atacados por los RL, formándose diferentes productos, sin embargo, unos son más susceptibles que otros.<sup>45</sup> Debido a que muchas de las especies reactivas generadas en los sistemas biológicos son deficientes en electrones (oxidantes, electrofílicas), reaccionan más rápidamente con cadenas laterales ricas en electrones (triptófano (Trp), tirosina (Tyr), histidina (His), metionina (Met), cisteína (Cys), fenilalanina (Phe)). No obstante, hay algunas especies nucleófilas o reductoras importantes que atacan preferentemente los sitios con deficiencia en electrones.<sup>46</sup> Por ejemplo, el orden de reactividad de la especie *HOCl* con cadenas laterales de proteínas fue determinado como Met > Cys >> Cistina ≈ His ≈ α-amino > Trp > Lys (lisina) >> Tyr ≈ Arg (arginina) > aminas de la columna vertebral > Gln (glutamina) ≈ Asn (asparagina).<sup>50</sup> En general, el daño que sufren las cadenas laterales de proteínas debido a estrés oxidativo varía dependiendo del oxidante, al igual que los productos obtenidos.<sup>12,13,46-55,20,56-59,27,31,33,37,39,44,45</sup>

### **3.2.2.2. Espectroscopia de resonancia paramagnética electrónica**

Los datos cinéticos sirven para determinar la velocidad general de reacción de un oxidante con un objetivo, pero las técnicas que generalmente se emplean para obtenerlos, como radiólisis por pulsos con detección UV, no suelen proporcionar información sobre la selectividad de daño en una molécula a menos que sea posible monitorear absorciones específicas de intermediarios o productos particulares. Por razones técnicas, generalmente, esto solo es posible para residuos aromáticos que contienen azufre, ya que la mayoría de las cadenas laterales alifáticas, y radicales centrados en carbono derivados por la abstracción de hidrógeno, no tienen absorciones fácilmente detectables. Aunque, datos sobre la selectividad del ataque en diferentes sitios dentro de una cadena lateral particular pueden obtenerse mediante estudios espectroscópicos de Resonancia Paramagnética Electrónica (RPE; también conocida como Resonancia de Espín Electrónica, REE) de los

radicales formados y análisis de productos.<sup>17</sup> Los factores que influyen sobre qué sitios son los más favorecidos incluyen: la estabilidad del radical en el caso de la oxidación mediada por radicales; factores estadísticos (número de cada tipo particular de enlace C – H / sitios de adición); y posibles interacciones estéricas y de carga, que pueden favorecer o desfavorecer la reacción en una posición particular.<sup>46</sup>

### **3.3. Antioxidantes**

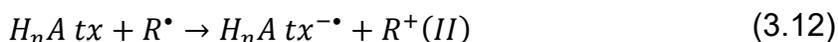
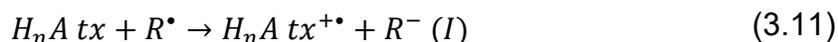
La exposición a ERO condujo a los organismos aerobios a desarrollar una serie de mecanismos de defensa, de manera que los RL puedan transformarse en productos menos tóxicos o no tóxicos.<sup>4</sup> A estas sustancias se les denomina antioxidantes y se considera como tal a cualquier sustancia que, cuando está presente en bajas concentraciones en comparación con las de un sustrato oxidable, retrase o evite significativamente la oxidación de ese sustrato,<sup>60</sup> por lo tanto, un antioxidante posee una mayor afinidad que cualquier otra molécula para interactuar con un RL, una ERO o una molécula dañada. En la definición anterior, se alude como sustrato oxidable a casi todas las moléculas orgánicas o inorgánicas que se encuentran en las células vivas, como proteínas, lípidos, hidratos de carbono y las moléculas de ADN.<sup>61</sup>

#### **3.3.1. Mecanismos antioxidantes**

Hay diferentes maneras de clasificar a un antioxidante, sin embargo, la clasificación que nos interesa depende de su mecanismo de acción. De acuerdo con esta clasificación, existen antioxidantes:

- I. Primarios o rompedores de cadena: el antioxidante primario puede atrapar RL y retrasar la etapa de inicio o interrumpir la etapa de propagación de la autooxidación. Uno de los principales mecanismos por el cual este tipo de antioxidantes puede actuar es el mecanismo de transferencia de un solo electrón (SET, por sus siglas en inglés), donde las especies reactivas son estabilizadas por la transferencia de un electrón por parte del antioxidante. Por consecuencia, la especie reactiva pierde esta condición debido al

apareamiento del electrón libre que tenía, mientras que la especie antioxidante, al perder un electrón, se convierte en un RL, aunque con una reactividad considerablemente baja en comparación con la especie que le cedió su electrón. En la ecuación (3.11) y (3.12) se observan los mecanismos de una reacción SET.<sup>26,61</sup>



- II. Secundarios o preventivos: los antioxidantes secundarios pueden retardar la oxidación de biomoléculas a través de una variedad de mecanismos, incluyendo la quelación de iones de metales de transición, la eliminación de oxígeno, la reposición de hidrógeno a los antioxidantes primarios, la absorción de radiación UV y la desactivación de especies reactivas. Por lo que estos antioxidantes ejercen su protección sin reaccionar directamente con RL.<sup>27,62,63</sup>
- III. Terciarios o reparadores: los antioxidantes terciarios tienen la capacidad de reparar biomoléculas dañadas por RL.<sup>45,61</sup>

### 3.4. Aminoácidos

Las proteínas son polímeros contruidos a partir de aminoácidos, con cada residuo\* de aminoácido unido a su vecino por un tipo específico de enlace covalente.<sup>64</sup> Hay 20 aminoácidos que son comunes a todos los organismos vivos de planeta Tierra.<sup>65</sup> Estas moléculas contienen un átomo de carbono central (el carbono  $\alpha$ ), al que están unidos cuatro grupos diferentes: un grupo amino, un grupo carboxilo, un átomo de hidrógeno y un grupo R, donde esta cadena lateral distingue a cada aminoácido debido a que varía en estructura, tamaño y carga eléctrica, por lo que influye en la solubilidad de los aminoácidos en agua. En consecuencia, el átomo de carbono es un centro quiral.<sup>64</sup>

Debido a la disposición tetraédrica de los orbitales de enlace alrededor del átomo de carbono, los cuatro grupos diferentes pueden ocupar dos disposiciones

---

\* El término "residuo" refleja la pérdida de los elementos del agua cuando un aminoácido se une a otro.<sup>64</sup>

espaciales únicas, y por lo tanto los aminoácidos tienen dos posibles estereoisómeros, D o L. Sin embargo, los residuos de aminoácidos en las moléculas de proteína son exclusivamente estereoisómeros L, a excepción de la glicina, que es aquiral.<sup>64,66</sup>

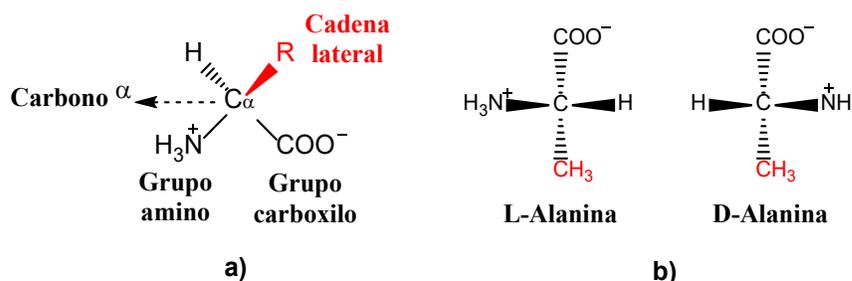


Figura 3-4. a) Forma estructural general de los aminoácidos hallados en las proteínas y b) Configuración de los estereoisómeros de la Alanina<sup>66</sup>

Los grupos amino y carboxilo, junto con los grupos R ionizables de algunos aminoácidos, funcionan como ácidos y bases débiles. Cuando un aminoácido que carece de un grupo R ionizable se disuelve en agua a pH neutro, existe en solución como el ion dipolar, o zwitterion, que puede actuar como ácido o como base.<sup>64</sup>

Tabla 3-3. Propiedades y convenciones asociadas con los aminoácidos comunes encontrados en las proteínas<sup>64</sup>

| Aminoácido   | Abreviación/símbolo | $pK_1$ (-COOH) | $pK_2$ (-NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> ) | $pK_R$ (grupo R) |
|--------------|---------------------|----------------|---|------------------|
| Glicina      | Gly G               | 2.34           | 9.60                                    |                  |
| Alanina      | Ala A               | 2.34           | 9.69                                    |                  |
| Prolina      | Pro P               | 1.99           | 10.96                                   |                  |
| Valina       | Val V               | 2.32           | 9.62                                    |                  |
| Leucina      | Leu L               | 2.36           | 9.60                                    |                  |
| Isoleucina   | Ile I               | 2.36           | 9.68                                    |                  |
| Metionina    | Met M               | 2.28           | 9.21                                    |                  |
| Fenilalanina | Phe F               | 1.83           | 9.13                                    |                  |
| Tirosina     | Tyr Y               | 2.20           | 9.11                                    | 10.07            |
| Triptófano   | Trp W               | 2.38           | 9.39                                    |                  |
| Serina       | Ser S               | 2.21           | 9.15                                    |                  |
| Treonina     | Thr T               | 2.11           | 9.62                                    |                  |
| Cisteína     | Cys C               | 1.96           | 10.28                                   | 8.18             |

|            |       |      |      |       |
|------------|-------|------|------|-------|
| Asparagina | Asn N | 2.02 | 8.80 |       |
| Glutamina  | Gln Q | 2.17 | 9.13 |       |
| Lisina     | Lys K | 2.18 | 8.95 | 10.53 |
| Histidina  | His H | 1.82 | 9.17 | 6.00  |
| Arginina   | Arg R | 2.17 | 9.04 | 12.48 |
| Aspartato  | Asp D | 1.88 | 9.60 | 3.65  |
| Glutamato  | Glu E | 2.19 | 9.67 | 4.25  |

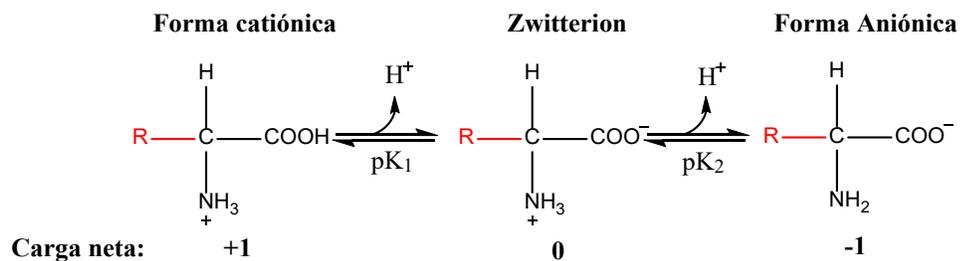


Figura 3-5. Especies iónicas principales de los aminoácidos comunes<sup>66</sup>

### 3.4.1. Enlace peptídico

Dos moléculas de aminoácidos pueden unirse covalentemente a través de un enlace de amida sustituido, llamado enlace peptídico, para producir un dipéptido. Este vínculo se forma por condensación entre el grupo carboxilo de un aminoácido y el grupo amino de otro, con la eliminación de una molécula de agua. Los péptidos contienen un grupo amino libre y un grupo carboxilo libre en los extremos opuestos de la cadena. Estos grupos ionizan como lo hacen en los aminoácidos libres, aunque las constantes de ionización son diferentes, igual que los grupos R ionizables; en un péptido estos contribuyen a las propiedades ácido-básicas generales de la molécula.<sup>64</sup> Además, usualmente estos extremos se pueden bloquear naturalmente con acetilo, formilo y amida.<sup>67</sup>

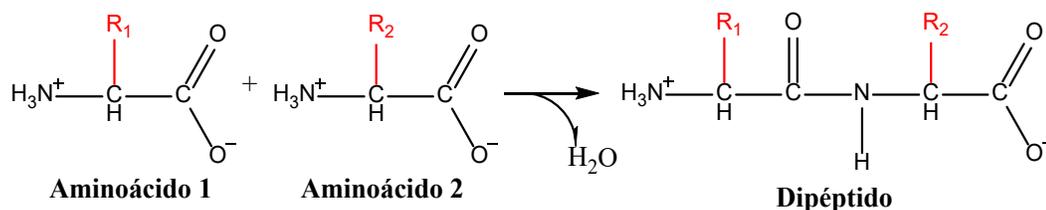


Figura 3-6. Formación de un enlace peptídico<sup>66</sup>

Los enlaces covalentes también imponen importantes restricciones a la conformación de un polipéptido. El enlace peptídico tiene un carácter de doble enlace parcial que mantiene todo el grupo peptídico de seis átomos ( $-NH - CH - CO-$ ) en una configuración rígida y plana. Esto es debido a que tiene una componente de doble enlace con participación  $\pi$ . Sin embargo, la rotación puede ocurrir alrededor de los enlaces a los átomos de  $C_{\alpha}$ .<sup>68</sup> Por lo tanto, la conformación del péptido se define por tres ángulos de torsión llamados  $\phi$  (phi, o rotación entorno al enlace  $N - C_{\alpha}$ ),  $\psi$  (psi, o rotación en torno al enlace  $C_{\alpha} - C_{O}$ ) y  $\omega$  (omega, o rotación en torno al enlace  $C_{O} - N$ ), reflejando la rotación de los tres enlaces que se repiten en la espina dorsal del péptido.<sup>64</sup>

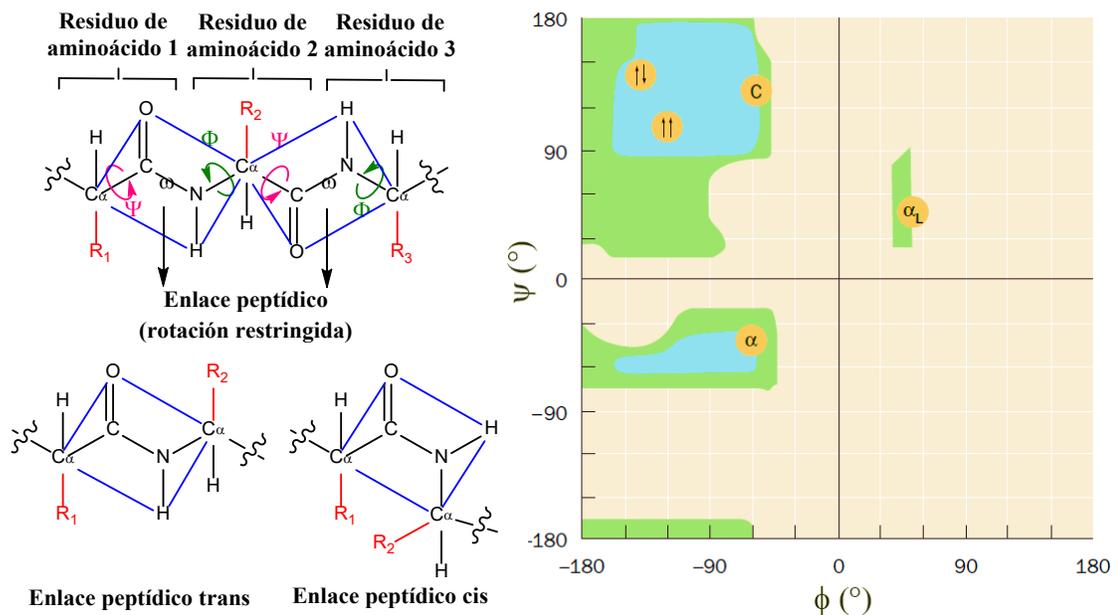


Figura 3-7. Ángulos diedros<sup>68</sup>, configuración del enlace peptídico<sup>65</sup> y diagrama de Ramachandran<sup>69</sup>

En principio, los ángulos  $\phi$  y  $\psi$  pueden tener cualquier valor entre 180 y -180, pero muchos de estos valores están prohibidos debido al impedimento estérico entre átomos no enlazados. La conformación en la que ambos son 0 o en las que uno de ellos es 0 y el otro 180 están prohibidas por esta razón.<sup>66</sup> El tercer ángulo diedro no se considera a menudo puesto que se encuentra 99,6% del tiempo en la configuración trans, en un valor de 180 y el resto del tiempo en cis, con un valor de 0. Los valores permitidos para  $\phi$  y  $\psi$  se hacen evidentes cuando se traza  $\psi$  frente a

$\phi$  en un gráfico de Ramachandran.<sup>64</sup> En este diagrama existen tres pequeñas regiones que son físicamente accesibles para la mayoría de los residuos, las cuales se pueden observar en la Figura 3-7, donde en color azul se encuentran las regiones permitidas para ambos ángulos excepto para los residuos Gly y Pro, en verde se indican los ángulos más concurridos y con círculos amarillos se representan ángulos de conformación de varias estructuras secundarias:  $\alpha$ ,  $\alpha$  hélice derecha;  $\uparrow\uparrow$ , hoja  $\beta$  paralela;  $\uparrow\downarrow$ , hoja  $\beta$  antiparalela; C, hélice de colágeno;  $\alpha_L$ , hélice izquierda.<sup>69</sup>

## 4. Hipótesis y objetivos

---

### 4.1. Hipótesis

Debido a que estudios recientes muestran que el radical superóxido y su ácido conjugado el radical hidropéroxilo pueden reparar radicales de triptófano y tirosina<sup>70,71</sup>, resulta de gran interés comprobar si el radical superóxido puede reparar radicales de otros aminoácidos.

### 4.2. Objetivo general

Estudiar el proceso de reparación por el superóxido de fragmentos de proteínas dañadas a causa de estrés oxidativo a través del mecanismo SET en medio acuoso.

### 4.3. Objetivos particulares

- a) Investigar radicales producto de la oxidación de residuos de aminoácidos en proteínas.
- b) Calcular las fracciones molares de especies ácido-base involucradas en las reacciones a pH = 7.4.
- c) Estudiar el efecto que tiene la geometría de la molécula en su estabilidad.
- d) Determinar la viabilidad termodinámica del proceso de reparación de fragmentos de proteínas dañadas.
- e) Estudiar la cinética del proceso de reparación de fragmentos de proteínas dañadas.

## 5. Marco teórico

### 5.1. Química computacional

Se entiende como química computacional al área de la química enfocada en la resolución de problemas químicos reales por medio del modelado molecular preciso y su elucidación con la ayuda de la mecánica cuántica, así como herramientas de cómputo. La química computacional es una rama de la química, de investigación multidisciplinaria, que apareció formalmente al término de los años setenta como evolución de la química teórica.<sup>72</sup> Esta hace uso de una gran complejidad para la realización de sus cálculos y pretende estimar valores de propiedades observadas experimentalmente, lo que en ocasiones es un camino más sencillo al contrario de la experimentación.<sup>73</sup> Algunas de estas propiedades son: geometrías moleculares, energías relativas, reactividad química, propiedades espectroscópicas, propiedades termodinámicas, etcétera.<sup>74</sup>



Figura 5-1. La química computacional y su relación con otras disciplinas<sup>75</sup>

## 5.2. Química cuántica

A comienzos del siglo veinte, los físicos se dieron cuenta de que las leyes de la mecánica clásica desarrolladas por Isaac Newton no describían correctamente el comportamiento de partículas elementales y núcleos de átomos y moléculas, sino que el comportamiento de estas últimas está regido por las leyes de la mecánica cuántica; donde la aplicación de esta disciplina a problemas químicos se conoce como química cuántica.<sup>76</sup>

La mecánica cuántica surgió del intento por esclarecer la naturaleza de la luz y su interacción con la materia y conforme a ella toda información sobre las propiedades de un sistema físico se halla en su función de onda ( $\Psi$ ); ya que Louis de Broglie en 1924 propuso que la luz se comportaba como onda o como partícula según como se estudie y extendió esto a la materia, advirtiendo así la existencia de una ecuación matemática que describiera ese hecho. La interpretación de esta función fue dada por Max Born, quien sugirió que la función de onda es la representación del estado de un sistema atómico directamente relacionada con la probabilidad de encontrar a dicho sistema en ese estado, es decir, la función de onda es una amplitud de probabilidad.<sup>77</sup>

### 5.2.1. Ecuación de Schrödinger

En 1926 Erwin Schrödinger interpreta el estado de un sistema por medio de una función de onda proponiendo una ecuación diferencial que desde entonces lleva su nombre y se muestra en la ecuación (5.1).

$$-\frac{\hbar^2}{2m} \frac{\partial^2}{\partial x^2} \Psi(x, t) + V(x, t) \Psi(x, t) = i\hbar \frac{\partial}{\partial t} \Psi(x, t) \quad (5.1)$$

donde  $i = \sqrt{-1}$ ,  $m$  es la masa de la partícula,  $\hbar$  es la constante de Dirac y  $V(x, t)$  es la función de energía potencial del sistema. Siendo esta ecuación la evolución de la función de onda para un sistema unidimensional de una sola partícula sometida a un potencial  $V(x, t)$ , donde están involucrados estados de sistemas dependientes del tiempo y de la posición. Sin embargo, existen casos particulares independientes del tiempo donde la función de onda se comporta como onda estacionaria; a estos

estados se les conoce como estacionarios. Para estos casos, la ecuación general de Schrödinger unidimensional para una partícula es:

$$\hat{H}\Psi(x) = E\Psi(x) \quad (5.2)$$

donde  $\hat{H} = -\frac{\hbar^2}{2m} \frac{\partial^2}{\partial x^2} \Psi(x) + V(x)$ , conocido como operador hamiltoniano u operador<sup>†</sup> de energía total, mientras que  $E$  es un valor propio<sup>‡</sup> del operador hamiltoniano y representa la energía total del sistema.<sup>78</sup> Aunque para describir propiedades moleculares, es decir, sistemas con varios núcleos y electrones, el hamiltoniano molecular (en el sistema internacional de unidades) queda como:

$$\hat{H} = -\frac{\hbar^2}{2} \sum_{\alpha} \frac{1}{m_{\alpha}} \nabla_{\alpha}^2 - \frac{\hbar^2}{2m_e} \sum_i \nabla_i^2 + \sum_{\alpha} \sum_{\beta > \alpha} \frac{Z_{\alpha} Z_{\beta} e^2}{4\pi\epsilon_0 \vec{r}_{\alpha\beta}} - \sum_{\alpha} \sum_i \frac{Z_{\alpha} e^2}{4\pi\epsilon_0 \vec{r}_{i\alpha}} + \sum_i \sum_{i>j} \frac{e^2}{4\pi\epsilon_0 \vec{r}_{ij}} \quad (5.3)$$

donde los índices  $\alpha$  y  $\beta$  se relacionan con los núcleos, los índices  $i$  y  $j$  con los electrones,  $4\pi\epsilon_0$  es la permitividad del vacío<sup>79</sup>,  $m_e$  es la masa del electrón,  $m_{\alpha}$  es la masa nuclear y  $e$  representa la carga del electrón. El primer término en el hamiltoniano es el operador de energía cinética de los núcleos; el segundo es el operador de energía cinética de los electrones; el tercero se refiere a la energía potencial debida a la repulsión entre los núcleos, donde  $\vec{r}_{\alpha\beta}$  es la distancia entre los núcleos  $\alpha$  y  $\beta$  con número atómico  $Z_{\alpha}$ ; el cuarto término se debe a la energía potencial de atracción entre los electrones y los núcleos, donde  $\vec{r}_{i\alpha}$  es la distancia entre el electrón  $i$  y el núcleo  $\alpha$ ; y el último término es la energía potencial debida a la repulsión entre los electrones  $i$  y  $j$  con una distancia entre ellos denotada como  $\vec{r}_{ij}$ .<sup>72</sup>

### 5.2.2. Aproximación de Born-Oppenheimer

Para poder utilizar cálculos mecánico-cuánticos en sistemas químicos de un tamaño comparable a los estudiados experimentalmente, es necesario realizar una serie de aproximaciones; una de estas aproximaciones es la de Born-Oppenheimer. La base de esta aproximación es un desacoplamiento entre variables de un sistema físico, donde unas cambian más rápidamente que otras y, por lo tanto, el comportamiento de estas últimas no será determinado por las variables lentas. En un sistema

<sup>†</sup> Un operador es una operación matemática o regla que transforma una operación dada en otra.<sup>76</sup>

<sup>‡</sup> Un valor propio es un escalar característico.<sup>76</sup>

molecular de acuerdo con el principio de incertidumbre<sup>§</sup>, y debido a que la masa nuclear es 1840 veces más grande que la del electrón, la velocidad de este es del orden de 1000 veces la del núcleo; lo que hace que los núcleos sean más fácilmente localizados que los electrones en las moléculas, puesto que las velocidades nucleares son menores.<sup>80</sup> Esto permite separar la ecuación de onda en una parte electrónica y otra nuclear:

$$\Psi_{total} = \Psi_{electrónica} \Psi_{nuclear} \quad (5.4)$$

El hamiltoniano simplificado con los valores propios asociados a la parte electrónica es:

$$(\hat{H}_{el} + V_{NN})\Psi_{el} = U\Psi_{el} \quad (5.5)$$

donde el hamiltoniano electrónico queda como:

$$\hat{H}_{el} = -\frac{\hbar^2}{2m_e} \sum_i \nabla_i^2 - \sum_\alpha \sum_i \frac{Z_\alpha e^2}{4\pi\epsilon_0 \vec{r}_{i\alpha}} + \sum_i \sum_{i>j} \frac{e^2}{4\pi\epsilon_0 \vec{r}_{ij}} \quad \text{y} \quad V_{NN} = \sum_\alpha \sum_{\beta>\alpha} \frac{Z_\alpha Z_\beta e^2}{4\pi\epsilon_0 \vec{r}_{\alpha\beta}} \quad (5.6)$$

en la que  $V_{NN}$  representa la repulsión entre los núcleos,  $\vec{r}_{\alpha\beta}$  es la distancia entre los núcleos  $\alpha$  y  $\beta$  y es una constante, y la energía  $U$  es la suma de energía electrónica y la repulsión internuclear. Debido a que las variables de la ecuación de Schrödinger son las coordenadas electrónicas, y  $V_{NN}$  es independiente de estas, al omitir este término constante obtenemos:

$$\hat{H}_{el}\Psi_{el} = E_{el}\Psi_{el} \quad (5.7)$$

donde  $E_{el}$  es la energía únicamente electrónica, puesto que la energía electrónica  $U$  tiene la expresión:

$$U = E_{el} + V_{NN} \quad (5.8)$$

Además, ya que los electrones se mueven más rápido que los núcleos, al cambiar la configuración de los núcleos, los electrones se ajustan inmediatamente por lo que  $U$  llega a ser la energía potencial para el movimiento nuclear. Por lo tanto, la ecuación de Schrödinger para el movimiento nuclear queda como:<sup>72,76</sup>

$$\hat{H}_N \Psi_N = E \Psi_N \quad (5.9)$$

---

<sup>§</sup> Este principio establece que la posición y la velocidad no pueden determinarse con absoluta precisión; más bien, disminuir la incertidumbre en la medición de una debe ser a costa de aumentar la incertidumbre en la otra. Todo esto se encuentra en la expresión:  $\Delta x \Delta p > \frac{h}{4\pi}$ , donde  $\Delta x$  es el error en la posición y  $\Delta p$  es el error en el impulso (masa multiplicada por la velocidad).<sup>77</sup>

donde el hamiltoniano nuclear se expresa en la siguiente ecuación:

$$\hat{H}_N = -\frac{\hbar^2}{2} \sum_{\alpha} \frac{1}{m_{\alpha}} \nabla_{\alpha}^2 + U \quad (5.10)$$

Debido a la falta de soluciones analíticas de ambos hamiltonianos se deben hacer ciertas aproximaciones, una de estas aproximaciones para encontrar soluciones al hamiltoniano electrónico ( $\hat{H}_{el}$ ) es el método Hartree-Fock.

### 5.2.3. Método Hartree-Fock

En 1927, Hartree introdujo un procedimiento al que llamó método del campo autoconsistente (SCF). Este método es uno de los más importantes para resolver la ecuación de Schrödinger para sistemas multielectrónicos; en él se asume que cada electrón se mueve en función de un campo potencial central creado por el núcleo y el campo promedio producido por el resto de los electrones. Al aplicar esto a todos los electrones y, con base en las funciones de onda obtenidas de esta manera, la función de onda total se entiende como el producto de las funciones de onda de los electrones individuales.<sup>81</sup>

$$\Psi = \psi_{\alpha}^{\alpha}(1)\psi_{\alpha}^{\beta}(2) \dots \psi_z^{\beta}(N_e) \quad (5.11)$$

siendo esta la función de onda para una molécula de capa cerrada\*\* con  $N_e$ -electrones, en donde el electrón 1 ocupa el orbital molecular  $\psi_{\alpha}$  con espín  $\alpha$ , el electrón 2 ocupa el orbital molecular  $\psi_{\alpha}$  con espín  $\beta$ , y así sucesivamente.<sup>82</sup> Sin embargo, de esta manera no se está cumpliendo el principio de antisimetría de Paulli, puesto que debe de cambiar el signo cuando se intercambian las coordenadas de cada par de electrones por tener espín semientero (+1/2 o -1/2).<sup>72</sup> Conforme a lo anterior la función de onda se expresa como la suma de todas las permutaciones posibles en la ecuación (5.12).

$$\Psi = \psi_{\alpha}^{\alpha}(1)\psi_{\alpha}^{\beta}(2) \dots \psi_z^{\beta}(N_e) - \psi_{\alpha}^{\alpha}(2)\psi_{\alpha}^{\beta}(1) \dots \psi_z^{\beta}(N_e) + \dots \quad (5.12)$$

En vista de que la suma anterior tiene  $N_e!$  términos, se puede escribir como un determinante también conocido como determinante de Slater:

---

\*\* Se denomina sistema de capa cerrada cuando se tiene un número par de electrones y todos se encuentran apareados.

$$\Psi = \frac{1}{\sqrt{N!}} \begin{vmatrix} \Psi_a^\alpha(1) & \Psi_a^\beta(1) & \dots & \dots & \Psi_z^\beta(1) \\ \Psi_a^\alpha(2) & \Psi_a^\beta(2) & \dots & \dots & \Psi_z^\beta(2) \\ \vdots & \vdots & & & \vdots \\ \Psi_a^\alpha(N_e) & \Psi_a^\beta(N_e) & \dots & \dots & \Psi_z^\beta(N_e) \end{vmatrix} \quad (5.13)$$

donde el factor  $\frac{1}{\sqrt{N!}}$  es una constante de normalización válida cuando los espín-orbitales<sup>††</sup> que conforman el determinante de Slater están normalizados. Puesto que los espín-orbitales se definen por medio del teorema variacional, es decir, las funciones de onda óptimas son aquellas con el menor valor de energía electrónica ( $E_{el}$ ), deben satisfacer las ecuaciones de Hartree-Fock:<sup>82</sup>

$$\hat{F}_1 \Psi_m^\sigma(1) = \varepsilon_m \Psi_m^\sigma(1) \quad (5.14)$$

En la ecuación anterior  $\varepsilon_m$  representa la energía del orbital,  $\sigma$  es  $\alpha$  o  $\beta$ , y  $\hat{F}_1$  es el operador Fock, que se define como:

$$\hat{F}_1 = \hat{h}_1 + \sum_{j=1}^{N/2} [2\hat{J}_j(1) - \hat{K}_j(1)] \quad (5.15)$$

Este operador consiste en tres términos (para moléculas de capa cerrada), el primero es:

$$\hat{h}_1 = -\frac{1}{2} \nabla_1^2 - \sum_{\alpha} \frac{Z_{\alpha}}{r_{1\alpha}} \quad (5.16)$$

la suma de la energía cinética para un electrón, más la energía potencial de la atracción entre el electrón 1 y los núcleos, en donde el factor 2 se debe a la existencia de dos electrones en cada orbital espacial. El segundo término es el operador coulombico  $\hat{J}_j(1)$ , el cual describe el promedio de las interacciones entre los electrones, o sea, expresa la energía potencial entre el electrón 1 y un electrón dentro de la densidad electrónica  $|\Psi_j(2)|^2$  y aplicado a una función cualquiera  $\hat{F}_1$  se expresa como:

$$\hat{J}_j(1)f_1 = f_1 \int \frac{|\Psi_j(2)|^2}{r_{12}} dv_2 \quad (5.17)$$

---

†† Un espín orbital es una función que describe tanto la distribución espacial como el espín de un electrón en un sistema electrónico.

Mientras que el último término es el operador de intercambio  $\hat{K}_j(1)$ , donde se toma en cuenta que la función de onda debe ser antisimétrica con respecto al intercambio de electrones: <sup>72,76</sup>

$$\hat{K}_j(1)f_1 = \Psi_j(1) \int \frac{\Psi_j^*(2)f_2}{\vec{r}_{12}} dv_2 \quad (5.18)$$

Lo que hizo viable el cálculo de orbitales moleculares fue la propuesta de Roothaan en 1951, al expandir la función espacial de los espín-orbitales como una combinación lineal (infinita en principio<sup>††</sup>) de funciones de base ( $\chi_s$ ):

$$\Psi_i = \sum_{s=1}^b C_{si} \chi_s \quad (5.19)$$

donde  $C_{si}$  es una constante de la función de base de  $i$ -ésimo espín-orbital. Si  $b$  es un número suficientemente grande y las funciones  $\chi_s$  son correctamente elegidas, se puede representar a los orbitales moleculares con error despreciable. Sustituyendo la ecuación anterior en la ecuación (5.14) obtenemos la expresión siguiente:

$$\hat{F}_1 \sum_s C_{si} \chi_s = \varepsilon_m \sum_s C_{si} \chi_s \quad (5.20)$$

Finalmente, al multiplicar la ecuación (5.20) por  $\chi_r^*$  e integrar en todo el espacio se tiene la conocida ecuación secular:

$$\sum_{s=1}^b C_{si} (F_{rs} - \varepsilon_i S_{rs}) = 0 \quad r = 1, 2, \dots, n \quad (5.21)$$

donde  $F_{rs} = \langle \chi_r | F | \chi_s \rangle$  y  $S_{rs} = \langle \chi_r | \chi_s \rangle$ ; y para obtener una solución no trivial se debe cumplir:

$$|F_{rs} - \varepsilon_i S_{rs}| = 0 \quad (5.22)$$

En general, el método SCF consiste en tomar un conjunto de orbitales de partida, con base en la ecuación (5.19), para calcular un primer valor de  $\hat{F}_1$  y con este operador obtener un nuevo conjunto de valores  $C_{si}$  de acuerdo con la ecuación (5.21); esto se repite hasta que el conjunto de orbitales sea consistente. Al

---

<sup>††</sup> Para la representación exacta de los espín-orbitales se necesitaría un número infinito de funciones de base, sin embargo, en la práctica se utiliza un número finito de ellas.<sup>72</sup>

completar este proceso se alcanza la autoconsistencia o autocoherencia de los espín-orbitales, motivo al cual el método debe su nombre.

#### 5.2.4. Conjunto de funciones de base

Un conjunto de funciones de base permite obtener una representación de los orbitales de un sistema químico<sup>72</sup> y, de acuerdo con la aproximación de Roothaan, una función de base  $\chi_s$  es una representación de los orbitales moleculares (OM)  $\Psi_i$ , o funciones desconocidas, como combinaciones lineales de funciones conocidas, como lo son los orbitales atómicos (OA). No obstante, las funciones de base no interpretan de manera exacta un OM, por lo que se utiliza un conjunto de ellas para obtener una descripción aceptable. Por lo tanto, su elección es muy importante, puesto que entre mayor sea el conjunto de funciones de base utilizado, la representación de la función de onda será mejor, sin embargo, los cálculos serán más lentos y requerirán de un número significativo de recursos de cómputo. En consecuencia, entre mejor sea la función de base para reproducir la función desconocida un menor conjunto de ellas serán necesarias para una mayor precisión y el costo computacional disminuirá. Las dos funciones de base más utilizadas son los conocidos como orbitales tipo Slater (OTS) y los orbitales de tipo Gaussiano (OTG).<sup>72</sup>

Los OTS se describe como:

$$\chi_s^{OTS}(r, \theta, \varphi; n, l, m) = N_s^{STO} Y_l^m(\theta, \varphi) r^{n-1} e^{-\zeta r} \quad (5.23)$$

Mientras que los OTG tienen la expresión (5.24) en coordenadas polares y en coordenadas cartesianas la expresión (5.25):

$$\chi_s^{OTG}(r, \theta, \varphi; n, l, m) = N_s^{OTG} Y_l^m(\theta, \varphi) r^{n-1} e^{-\zeta r} \quad (5.24)$$

$$\chi_s^{OTG}(x, y, z; l_x, l_y, l_z) = N_s^{OTG} x^{l_x} y^{l_y} z^{l_z} e^{-\zeta r^2} \quad (5.25)$$

donde, para las funciones OTS las variables  $(n, l, m)$  son los números cuánticos principal, de momento angular y de momento magnético, respectivamente; en cambio, en las funciones OTG las variables  $(l_x, l_y, l_z)$  son valores enteros no negativos<sup>76</sup> y su suma define el orbital del electrón. Además, para ambos casos  $N$  es la constante de normalización,  $Y_l^m$  son las funciones conocidas como armónicos

esféricos<sup>§§</sup> que dependen de los números cuánticos  $(l, m)$  y son las que le dan la simetría correcta al orbital y, por último,  $\zeta$  (zeta) es un exponente que depende del tipo de orbital, también llamado exponente orbital.

Como se puede observar en la Figura 5-2, debido a que en los OTS se presenta una discontinuidad en  $r = 0$  (cúspide) y esto permite describir correctamente el comportamiento de la función en torno al núcleo, una función OTG da una representación pobre de un OA para valores pequeños de  $r$ .<sup>76</sup> Encima, son necesarias un menor número de funciones de base Slater para el mismo nivel de aproximación.<sup>72</sup> Sin embargo, en la práctica, las funciones OTS generan integrales moleculares más difíciles de manejar en comparación con las integrales gaussianas quienes consumen un menor tiempo de cálculo por el hecho de que el producto de dos funciones gaussianas centradas en dos puntos diferentes da como resultado una tercera gaussiana centrada en un tercer punto, simplificando así notablemente las integrales.

Siendo así, con el fin de mejorar la descripción de los orbitales se utilizan funciones obtenidas como combinación lineal de funciones gaussianas preestablecidas (funciones gaussianas primitivas,  $\chi_u^{OTG}$ ) de modo que su forma se asemeje lo más posible a una OTS. A las funciones obtenidas de esta manera se les conoce como funciones gaussianas contraídas,  $\chi_r^{FGC}$  :

$$\chi_r^{OTGC} = \sum_u d_{ur} \chi_u^{OTG} \quad (5.26)$$

donde  $\chi_s^{OTG}$  son las gaussianas normalizadas centradas en el mismo átomo y con los mismos valores de  $x, y, z$  que en la ecuación (5.25) pero diferente exponente orbital y los coeficientes de contracción  $d_{ur}$  son constantes.<sup>76</sup> Al obtener orbitales tipo Slater por medio de este procedimiento se le conoce como OTS-NG, donde N indica el número de gaussianas primitivas ocupadas, y entre mayor sea este número la función OTGC será más parecida a la OTS, un ejemplo de este tipo de base puede visualizarse en la Figura 5-2.

---

<sup>§§</sup> Los armónicos esféricos son funciones armónicas que representan la variación espacial de un conjunto ortogonal de soluciones de la ecuación de Laplace cuando la solución se expresa en coordenadas esféricas.

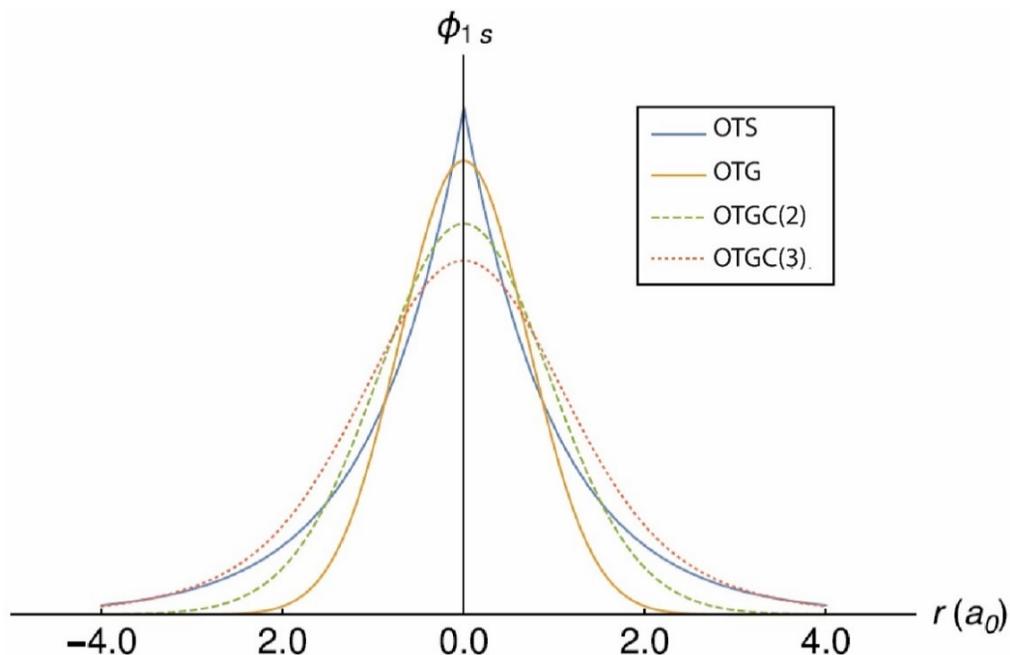


Figura 5-2. OTG, OTGC y OTS para el orbital 1s del átomo de hidrógeno<sup>83</sup>

La base más pequeña disponible se conoce como base mínima y solo incorpora las funciones de base necesarias para contener todos los electrones de los átomos neutros, lo que permite hacer cálculos rápidos de moléculas pequeñas y abordar sistemas moleculares con poca precisión. Para mejorar esto, se puede aumentar el tamaño de la base doblando todas las funciones generando así las bases doble zeta, que describe mejor el hecho de que la distribución electrónica es distinta en diferentes direcciones.<sup>72</sup> No obstante, en vista de que el enlace químico sucede entre electrones de valencia y estos son más importantes químicamente que los electrones internos o de *core*, comúnmente se emplean conjuntos de base de valencia dividida, es decir, se utiliza una función de base para describir al núcleo y dos o más para los orbitales de valencia; por ello estos conjuntos de base pueden tener dos o más componentes en la capa externa consiguiendo bases más completas como la triple zeta, que divide en tres la base mínima, la cuádruple, quíntuple, etc.

De igual modo, para una mejor descripción de los orbitales se utilizan adicionalmente funciones de polarización y funciones difusas. Los conjuntos de base polarizados adicionan una o más funciones con un momento angular mayor al requerido, ya que al formarse una molécula los OA distorsionan su forma y sus

centros de carga se desplazan, permitiendo cambios en la forma del orbital. En cambio, la incorporación de funciones difusas permite una descripción mejorada de los alcances externos de la distribución de electrones al extenderse más lejos del centro nuclear.<sup>84</sup>

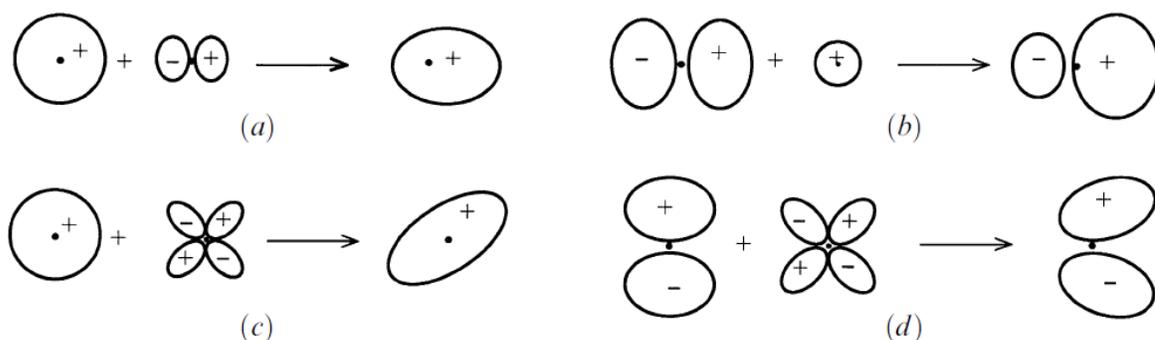


Figura 5-3. Acción de las funciones de polarización: (a)  $s$  polarizada por  $p$ ; (b)  $p$  polarizada por  $s$ ; (c)  $s$  polarizada por  $d$ ; (d)  $p$  polarizada por  $d$ <sup>85</sup>

Las funciones de base más conocidas son llamadas bases de Pople que tienen la notación  $k - nlmG$  y pertenecen al tipo de valencia dividida, donde la  $k$  indica el número de funciones gaussianas primitivas que se utilizan para representar los OA internos; las letras  $nlm$ , indican la cantidad de funciones en las que se dividen los orbitales de valencia como la cantidad de funciones gaussianas primitivas que son empleadas para representarles,<sup>72</sup> en otras palabras, si después del guion hay 2 números, la función es doble zeta, si hay 3 números es triple zeta, y así sucesivamente; y el símbolo  $G$  se refiere a los OTG. A estas funciones también se les pueden adicionar funciones de base polarizadas, que en la nomenclatura de Pople se representan con asteriscos (\*\*) o como  $(d,p)$ , esto es, se agregan orbitales  $d$  para átomos pesados (un solo asterisco) y orbitales  $p$  para los hidrógenos y helios<sup>76</sup> (dos asteriscos); al igual que funciones difusas, representadas por el signo de suma (+), un solo signo + indica la adición de funciones difusas en átomos pesados o diferentes del hidrógeno y un segundo signo representa la adición de funciones difusas en átomos ligeros (hidrógeno y helio).<sup>84,86</sup>

En este trabajo se utilizó la base  $6 - 311 + G(d,p)$  que se describe como función base de valencia dividida triple zeta, con 6 OTG para describir a los orbitales del núcleo, 3 OTG para la parte interna de los orbitales de valencia y 2 OTS-1G para

la parte externa de estos, el + añade funciones difusas tipo p y s para los elementos H-Ca, Ga-Kr y l, importante para moléculas aniónicas y, finalmente,  $(d, p)$  adicionan funciones de polarización tipo d (o f) para átomos diferentes a hidrógeno<sup>84</sup> y tipo p en átomos de H.

### 5.2.5. Teoría de funcionales de la densidad

La principal desventaja al utilizar la aproximación Hartree-Fock (HF) es que no toma en cuenta la implicación energética de la correlación del movimiento de los electrones debido a su interacción (correlación electrónica). La teoría de funcionales de la densidad (TFD) proporciona una ruta alternativa que da resultados comparables a los obtenidos utilizando métodos basados en el procedimiento HF, con la principal diferencia de que los cálculos con TFD se pueden aplicar en moléculas con 100 o más átomos pesados.<sup>87</sup>

TFD es una de las técnicas más utilizadas para el cálculo de estructura electrónica con un menor esfuerzo computacional, menor tiempo de cómputo y, en algunos casos, con una mejor congruencia con datos experimentales.<sup>82</sup> Esta teoría surge del querer reemplazar la función de onda de N-electrones complicada con su dependencia de  $3N$  coordenadas espaciales más  $N$  variables de espín por una cantidad más simple como lo es la distribución espacial de los electrones, también denominada densidad electrónica;<sup>88</sup> la cual es un campo escalar<sup>\*\*\*</sup> y solo depende de 3 variables espaciales. Históricamente, los orígenes de la TFD se remontan a los trabajos de Thomas-Fermi quienes mostraron que al hacer uso de la estadística que siguen los electrones (estadística de Fermi-Dirac), se puede desarrollar un modelo atómico capaz de predecir valores experimentales de energías totales de átomos de la tabla periódica en términos de la densidad electrónica. Dirac mejoró este modelo al añadir un funcional de energía de intercambio; a este modelo se le considera como el primer funcional de la densidad en la historia de la estructura electrónica de la materia. Aunque fue hasta 1964, cuando Pierre Hohenberg y Walter Kohn demostraron los dos teoremas que son la base de esta teoría.<sup>89</sup>

---

\*\*\* Se denomina campo escalar a la representación de la distribución espacial de una magnitud escalar.

### 5.2.5.1. Teoremas de Hohenberg y Kohn

El enfoque de Hohenberg y Kohn fue formular la teoría propuesta por Thomas-Fermi-Dirac, como una teoría para sistemas de partículas interactuantes en presencia de un potencial externo<sup>†††</sup>  $V_{ext}(x, y, z)$ . Concretamente uno de estos teoremas se expresa como:

1º. Prueba de existencia: “El potencial externo  $V_{ext}(x, y, z)$  es, junto con una constante, un funcional único de  $\rho_0(x, y, z)$ ; ya que, como a su vez,  $V_{ext}(x, y, z)$  fija a  $\hat{H}$  vemos que el estado basal<sup>†††</sup> de muchas partículas es un funcional único de  $\rho_0(x, y, z)$ .”<sup>88</sup>

Estableciendo así, que dos potenciales externos distintos no describen la misma densidad electrónica del estado base, es decir, la densidad del estado base determina unívocamente al potencial externo;<sup>88</sup> por lo que, para conocer la energía del estado basal de un sistema de fermiones<sup>§§§</sup> no es necesario calcular la función de onda, sino que basta con obtener su densidad electrónica.<sup>89</sup> De acuerdo con lo anterior, se puede decir que la energía del estado basal  $E_0$  es funcional (función de una función) de la densidad electrónica  $E_0 = E_v[\rho_0]$ , donde el subíndice  $v$  enfatiza la dependencia de la energía con el potencial externo.<sup>72,76</sup>

Si consideramos el hamiltoniano electrónico de una molécula en unidades atómicas (a. u.,  $\hbar = m_e = e = 4\pi\epsilon_0 = 1$ ), tenemos:

$$\hat{H}_{el} = \underbrace{-\frac{1}{2} \sum_i \nabla_i^2}_{\hat{T}} - \underbrace{\sum_{\alpha} \sum_i \frac{Z_{\alpha}}{r_{i\alpha}}}_{\hat{V}_{ext}} + \underbrace{\sum_i \sum_{i>j} \frac{1}{r_{ij}}}_{\hat{V}_{ee}} \quad (5.27)$$

Por lo que, al tomar el promedio del  $\hat{H}_{el}$  y emplear el teorema de Hohenberg y Kohn podemos escribir a  $E_0$  como:

$$E_0 = \hat{T}[\rho_0] + \hat{V}_{ext}[\rho_0] + \hat{V}_{ee}[\rho_0] \quad (5.28)$$

De la expresión de energía anterior podemos separar aquellas partes que son independientes del sistema de estudio, como lo son la energía cinética  $\hat{T}[\rho_0]$  y

††† Potencial nuclear conocido como "potencial externo", presumiblemente porque los núcleos son "externos" si nos concentramos en los electrones.<sup>91</sup>

††† Estado de menor energía de un sistema.

§§§ Partículas con espín semientero que siguen la estadística de Fermi-Dirac.<sup>89</sup>

el potencial debido a la repulsión electrón-electrón, en una nueva expresión universal:

$$\hat{F}_{HK}[\rho_0] = \hat{T}[\rho_0] + \hat{V}_{ee}[\rho_0] \quad (5.29)$$

Esta expresión es conocida como el funcional de Hohenberg-Kohn  $F_{HK}[\rho_0]$  y es de suma importancia puesto que si se conociera exactamente se habría resuelto la ecuación de Schrödinger, sin embargo, el teorema no dice nada acerca de la forma exacta del funcional. Se puede separar en dos términos el potencial debido a la repulsión electrón-electrón como se muestra a continuación:

$$\hat{V}_{ee}[\rho_0] = \hat{J}[\rho_0] + \hat{E}_{IC}[\rho_0] \quad (5.30)$$

donde  $\hat{J}[\rho_0]$  es la repulsión coulombica clásica y el término  $\hat{E}_{IC}[\rho_0]$  representa la interacción no clásica definida como la energía de intercambio y correlación electrónica.<sup>90</sup>

En general, el primer teorema demuestra que la densidad electrónica del estado basal determina de manera única al operador de Hamilton electrónico y, por lo tanto, a todas las propiedades del sistema.<sup>88</sup> El segundo teorema de Hohenberg-Kohn define una importante propiedad del funcional:

2º. Principio variacional: *“La verdadera densidad electrónica del estado fundamental minimiza el funcional de energía  $E_v[\rho]$ .”*<sup>76</sup>

De modo que, cualquier función de prueba de densidad electrónica dará una energía superior o igual a la verdadera energía del estado base, dependiendo si es o no la verdadera densidad de probabilidad electrónica.<sup>91</sup> Por consiguiente, este segundo teorema se expresa como:

$$E_0 \leq E_v[\rho] = \hat{V}_{ext}[\rho] + \hat{T}[\rho] + \hat{J}[\rho] + \hat{E}_{IC}[\rho] \quad (5.31)$$

En la práctica es necesario utilizar aproximaciones con respecto a las partes del funcional que tratan de la energía cinética y las energías de intercambio y correlación del sistema de electrones.<sup>92</sup>

### 5.2.5.2. Método de Kohn y Sham

En 1965, con la finalidad de resolver el problema de la construcción del funcional Walter Kohn y Lu Sham propusieron un método práctico para encontrar la densidad  $\rho_0$  y, a partir de ella, la energía  $E_0$ .

Kohn y Sham consideraron un sistema ficticio (denotado mediante el subíndice  $s$ ) de  $n$  electrones no interactuantes sujetos a un potencial externo  $V_s(\vec{r}_i)$  tan ingeniosamente adaptado que la densidad de probabilidad electrónica es igual a la densidad electrónica del estado fundamental, es decir:

$$\rho_s(\vec{r}_i) = \rho_0(\vec{r}) \quad (5.32)$$

Debido a que en el sistema de referencia los electrones no interactúan entre sí la función de onda que describe el sistema tiene la forma de un determinante de Slater. Así pues, el Hamiltoniano del sistema queda como:

$$\hat{H}_s = \sum_i \left[ -\frac{1}{2} \nabla_i^2 - V_s(\vec{r}_i) \right] = \sum_i \hat{h}_i^{KS} \quad (5.33)$$

donde  $\hat{h}_i^{KS}$  es el Hamiltoniano de un electrón de Kohn-Sham (KS). Aplicando el primer teorema de Hohenberg y Kohn al sistema, la energía cinética queda expresada como un funcional de la densidad de acuerdo con:

$$\hat{T}_s[\rho] = -\frac{1}{2} \sum_i \langle \Psi_i^{KS} | \nabla_i^2 | \Psi_i^{KS} \rangle \quad (5.34)$$

donde  $\Psi_i^{KS}$  son espín-orbitales de Kohn y Sham.

De esta manera, el funcional de energía cinética  $\hat{T}[\rho]$  se reemplaza por el funcional de energía cinética de partículas no interactuantes  $\hat{T}_s[\rho]$ , y la diferencia entre ambas energías se incorpora en la energía de intercambio y correlación. Esto es, ya que  $\Delta\hat{T}[\rho]$  se define como:

$$\Delta\hat{T}[\rho] = \hat{T}[\rho] - \hat{T}_s[\rho] \quad (5.35)$$

En consecuencia, el funcional universal se escribe de la forma:<sup>90</sup>

$$\hat{F}_{HK}[\rho_0] = \hat{T}_s[\rho] + \hat{J}[\rho] + \hat{E}_{IC}[\rho] \quad (5.36)$$

donde

$$\hat{E}_{IC}[\rho] = \hat{T}[\rho] - \hat{T}_s[\rho] + \hat{V}_{ee}[\rho] - \hat{J}[\rho] \quad (5.37)$$

Por consiguiente, todos aquellos términos desconocidos se encuentran en el funcional de intercambio y correlación. Al aplicar el segundo teorema de Hohenberg y Kohn a los orbitales KS en la expresión anterior, es posible escribir la siguiente ecuación de valores propios:

$$\hat{h}_i^{KS} \psi_i^{KS} = \epsilon_i^{KS} \psi_i^{KS} \quad (5.38)$$

donde  $\epsilon_i^{KS}$  es la energía del orbital de Kohn y Sham. A este conjunto de ecuaciones obtenidas se les denomina ecuaciones de Kohn-Sham y se pueden escribir desarrolladas de la siguiente manera:

$$\left[ -\frac{1}{2} \nabla_i^2 - \sum_i \frac{Z_\alpha}{\vec{r}_{i\alpha}} + \int \frac{\rho(\vec{r}_j)}{\vec{r}_{ij}} d^3 \vec{r}_j + \frac{\partial \hat{E}_{IC}[p(\vec{r}_i)]}{\partial \rho(\vec{r}_i)} \right] \psi_i^{KS} = \epsilon_i^{KS} \psi_i^{KS} \quad (5.39)$$

siendo  $\hat{V}_{IC}$  el potencial de intercambio y correlación. Esta expresión se resuelve a través de un proceso iterativo similar al del método HF, en el que se parte de una densidad inicial para estimar  $\hat{V}_{IC}$  y utilizar ese dato en la ecuación de valores propios; con ello se obtienen los orbitales por medio de la ecuación secular (5.21) (donde se sustituye el operador de Fock por el operador de Kohn y Sham). Una vez obtenidos los orbitales, estos se usan para conseguir una densidad electrónica mejorada e iniciar nuevamente el ciclo hasta no tener diferencia significativa en la densidad y los orbitales KS. Una vez alcanzada la convergencia en el cálculo, se calcula la energía del estado fundamental utilizando los valores de  $\rho$  y del funcional aproximado  $\hat{E}_{XC}$  a los que se alcanzó la convergencia.<sup>72,76</sup>

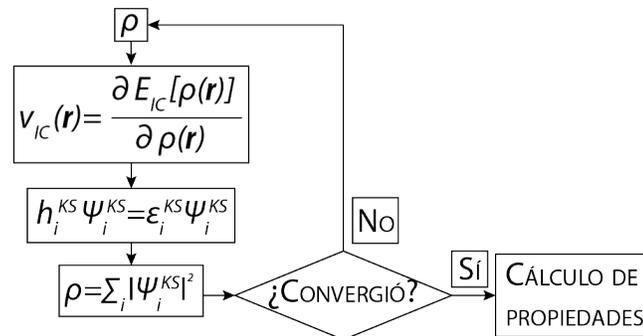


Figura 5-4. Diagrama de flujo del cálculo con teoría de los funcionales de la densidad<sup>72</sup>

### 5.2.5.3. Aproximaciones al funcional de intercambio y correlación

Por conveniencia en el diseño de aproximaciones al funcional de intercambio y correlación, este es dividido en dos contribuciones:

$$\hat{E}_{IC} = \hat{E}_I + \hat{E}_C \quad (5.40)$$

un funcional de intercambio y otro funcional de correlación. Ambos componentes pueden ser de dos tipos distintos: funcionales locales dependientes sólo de la densidad del electrón  $\rho$ , o funcionales de gradiente corregido, los cuales dependen tanto de  $\rho$  como de su gradiente  $\nabla\rho$ .<sup>93</sup>

Kohn y Sham sugirieron el uso de una cierta forma de  $\hat{E}_{IC}[\rho]$  llamada aproximación local de densidad o aproximación local de la densidad de espín (ADL o ALDE).<sup>94</sup> ADL fue uno de los primeros métodos para calcular la energía de intercambio y correlación de acuerdo con la siguiente expresión:

$$\hat{E}_{IC}^{ADL}[\rho(\vec{r})] = \int \rho(\vec{r}) \varepsilon_{IC}(\rho(\vec{r})) d^3\vec{r} \quad (5.41)$$

donde  $\varepsilon_{IC}$  es la energía de intercambio y correlación de un gas de electrones uniforme. Mientras que en ADLE se considera explícitamente la existencia del espín. Sin embargo, por sí mismos estos modelos tienen debilidades en la descripción de los sistemas moleculares debido a que en ambos la densidad electrónica varía lentamente con la posición. Por lo que, para mejorar estos métodos se tomó en cuenta la variación de la densidad electrónica con la posición y se incluyeron los gradientes de densidad de espín:

$$\hat{E}_{IC}^{AGG}[\rho^\alpha(\vec{r}), \rho^\beta(\vec{r})] = \int f(\rho^\alpha(\vec{r}), \rho^\beta(\vec{r}), \nabla\rho^\alpha(\vec{r}), \nabla\rho^\beta(\vec{r})) d^3\vec{r} \quad (5.42)$$

siendo  $f$  una función de densidad de espín y sus gradientes. Este enfoque es conocido como aproximación de gradiente generalizado (AGG).<sup>72</sup> De acuerdo con esto, es obvio que un siguiente paso en la mejora del funcional sería tomar en cuenta la segunda derivada de la densidad, es decir, el laplaciano. Un enfoque diferente considera la dependencia del  $\hat{E}_{IC}$  de la densidad de energía cinética  $\tau$ , quien es obtenido de la siguiente manera:<sup>79,91</sup>

$$\tau(\vec{r}) = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^{ocupados} |\nabla \psi_i^{KS}(\vec{r})|^2 \quad (5.43)$$

A estos nuevos funcionales se les denomina funcionales meta-AGG, ya que van más allá de una simple corrección de gradiente.<sup>95</sup> Además de estos, se han ido desarrollando más aproximaciones que hacen inclusión de más variables como lo son: la energía de intercambio de Hartree-Fock  $E_i^{HF}$ , orbitales ocupados de Kohn-Sham  $\Psi_o^{KS}$ , y orbitales desocupados de Kohn-Sham  $\Psi_d^{KS}$ . De acuerdo con las variables adicionadas estas aproximaciones se conocen como hiper-AGG y aproximación de fase aleatoria generalizada (AFA Generalizada). En general, la historia de las aproximaciones para encontrar el funcional de intercambio y correlación se puede resumir en la Figura 5-5, donde se muestra la clasificación de los funcionales de intercambio y correlación propuesta por J.P. Perdew, conocida como la escalera de Jacob, la cual consta de 5 escalones y donde se espera una mejora en la precisión de los cálculos al avanzar en ellos.<sup>79</sup>

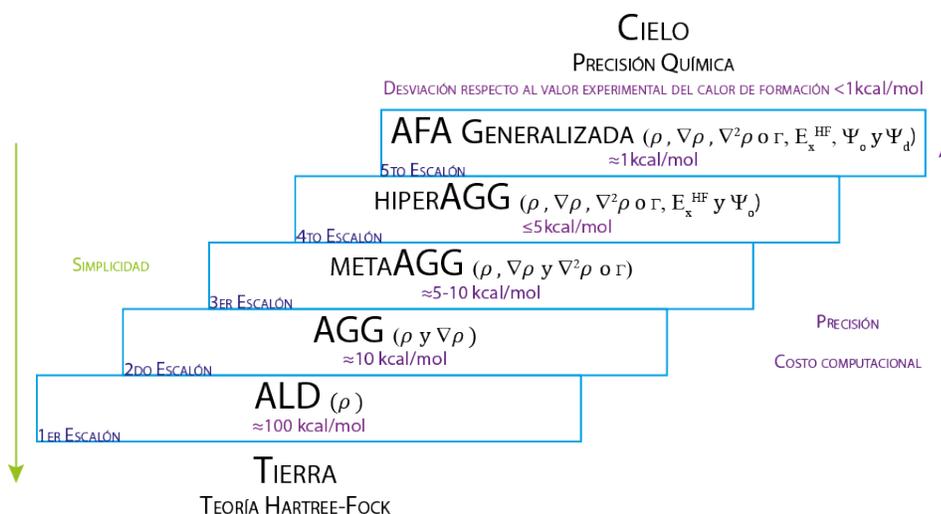


Figura 5-5. Escalera de Jacob para los funcionales de intercambio y correlación escritos por sus siglas<sup>79,89,96</sup>

Se han propuesto cientos de funcionales de la densidad, sin embargo, su elección depende del tipo de compuestos que se quieran estudiar y de las propiedades que nos interesen, puesto que cada funcional da buenos resultados en cierto tipo de compuestos y para propiedades específicas.

Zhao y Truhlar desarrollaron un conjunto de funcionales de intercambio-correlación meta-AGG que contienen los siguientes porcentajes de intercambio HF: 0% para M06-L, 27% para M06, 28% para M05, 54% para M06-2X, 56% para M05-

2X y 100% para M06-HF.<sup>97</sup> En estos funcionales M06 significa Universidad de Minnesota 2006 o 2005 en el caso de M05; el primero de estos funcionales es clasificado como local, mientras que los otros son clasificados como híbridos meta-AGG, o sea, hyper-AGG.<sup>98</sup> El intercambio HF se obtiene de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\hat{E}_{IC} = \frac{Y}{100} E_i^{HF} + \left(1 - \frac{Y}{100}\right) \hat{E}_i^{DFT} + \hat{E}_c^{DFT} \quad (5.44)$$

siendo  $Y$  el porcentaje de intercambio HF. Estos funcionales tienen cada uno 35 parámetros. Además, Zhao y Truhlar probaron que M06-2X y M05-2X proporcionaban el mejor rendimiento para la termoquímica y cinética del grupo principal, M06-L y M06 produjeron el mejor desempeño para la termoquímica de metales de transición y M06-2X, M05-2X, M06-HF, M06, y M06-L el mejor rendimiento para interacciones no covalentes como la unión de hidrógeno.<sup>97</sup> Debido a lo anterior es que en este trabajo se hizo uso del funcional M06-2X, puesto que en sistemas biológicos se espera que las interacciones no covalentes, involucradas en mantener la estructura tridimensional de una proteína, tengan una gran repercusión en las estructuras de los péptidos.

### 5.2.6. Superficie de energía potencial

Una superficie de energía potencial (SEP) especifica la forma en que la energía de un sistema molecular varía con pequeños cambios en su estructura, es decir, es una relación matemática que vincula la estructura molecular y la energía resultante. Por ejemplo, para una molécula diatómica, SEP puede ser representada por un gráfico bidimensional con la separación internuclear en el eje  $x$  y la energía a esa distancia de enlace en el eje  $y$ ; en este caso, SEP es una curva. Cuando se consideran sólo dos grados de libertad dentro de la molécula, y se traza la energía perpendicular al plano definido por ellos, se crea una superficie; aquí, cada punto representa una estructura molecular particular, donde la altura de la superficie corresponde a la energía de esa estructura. Para sistemas más grandes, la superficie tiene tantas dimensiones como grados de libertad hay dentro de la molécula.

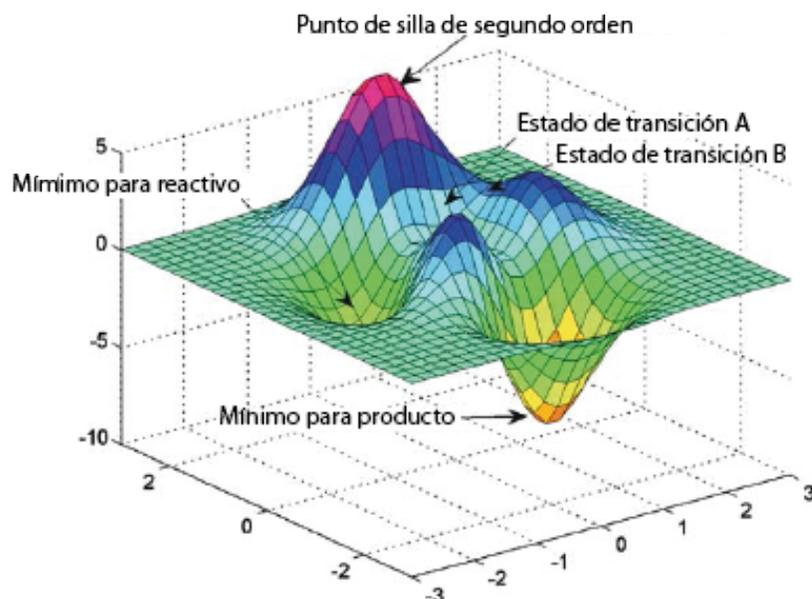


Figura 5-6. Superficie de energía potencial en 3D<sup>92</sup>

La superficie ilustrada en la Figura 5-6 contiene tres mínimos: un mínimo es un punto en el fondo de un valle, desde el cual el movimiento en cualquier dirección conduce a una energía más alta. Dos de ellos son mínimos locales, lo que corresponde al punto más bajo en alguna región limitada de la superficie potencial, y uno de ellos es el mínimo global, el punto de energía más bajo en cualquier parte de la superficie potencial. Diferentes mínimos corresponden a diferentes conformaciones o isómeros estructurales de la molécula investigada. Además, la ilustración muestra dos máximos y un punto de silla, este último corresponde a una estructura de estado de transición. Tanto en los puntos mínimos como en los puntos de silla, la primera derivada de la energía, conocida como gradiente, es cero. Puesto que el gradiente es el negativo de las fuerzas, estas también son cero en tales puntos. Un punto en SEP donde las fuerzas son cero se llama punto estacionario. Todas las optimizaciones exitosas ubican un punto estacionario, aunque no siempre sea el deseado. Las optimizaciones de geometría normalmente localizan el punto estacionario más cercano a la geometría de la que parten. Cuando se realiza una minimización, con la intención de encontrar la estructura de energía mínima, existen varias posibilidades: puede que se haya encontrado un mínimo global, puede que se haya encontrado un mínimo local pero no el mínimo global, o bien puede que se haya localizado un punto de la silla de montar.

Una optimización geométrica por sí sola no puede determinar la naturaleza del punto estacionario que alcanza, para esto es necesario realizar un cálculo de frecuencias sobre la geometría optimizada. Los programas de estructura electrónica como Gaussian son capaces de llevar a cabo estos cálculos (incluso se puede realizar una optimización seguida de un cálculo de frecuencia en la geometría optimizada en un solo trabajo). El cálculo de frecuencia completado incluirá una variedad de resultados tales como frecuencias, intensidades, modos normales asociados, la energía del punto cero de la estructura y varias propiedades termoquímicas. Valores de frecuencia inferiores a cero se conocen como frecuencias imaginarias. El número de frecuencias imaginarias indica el tipo de punto estacionario al que corresponde la estructura molecular dada. Por definición, una estructura que tiene  $n$  frecuencias imaginarias es un punto de silla de  $n$ -ésimo orden. Así, un mínimo tendrá cero frecuencias imaginarias, y una estructura de transición ordinaria tendrá una frecuencia imaginaria ya que es un punto de silla de primer orden.<sup>92</sup>

*Tabla 5-1. Frecuencia y minimización de la energía*<sup>92</sup>

| <i>Búsqueda computacional</i>       | <i>Frecuencia</i>                 | <i>Inferencia</i>                      |
|-------------------------------------|-----------------------------------|--|
| <i>Minimización de la geometría</i> | Sin frecuencia imaginaria         | Minimización de la geometría alcanzada |
| <i>Minimización de la geometría</i> | Una o más frecuencias imaginarias | La estructura es un punto de silla     |

### 5.2.7. Efecto del disolvente y termodinámica

Las propiedades moleculares calculadas con todos los métodos antes mencionados son apropiadas para moléculas en fase gaseosa que se encuentran a elevada presión,<sup>76,97</sup> sin embargo, la mayoría de procesos de interés químico tienen lugar en disolución, y el disolvente puede afectar tanto a: la geometría de la molécula, debido a los cambios en la estructura electrónica; como su cinética, ya que el índice de reacción es muy sensible al disolvente usado.

Hay varias maneras en las que las moléculas del disolvente pueden influir en la reactividad química. En algunas reacciones, estas moléculas están directamente implicadas en la reacción química ya que están ligadas a las moléculas de soluto,

formando parte de este y, por lo tanto, las moléculas de disolvente deben tratarse explícitamente. En otros sistemas, las moléculas de disolvente no interactúan directamente con las moléculas de soluto solo proporcionan un entorno que influye fuertemente en su conformación, por lo que las moléculas de disolvente pueden modelarse implícitamente. En un tercer modelo, las moléculas de disolvente actúan como un medio masivo y modifican significativamente las propiedades del soluto, aquí la interacción soluto-solvente se modela utilizando un enfoque híbrido entre el modelo explícito y el modelo continuo.

Tabla 5-2. Tipos de modelos de solvatación<sup>99</sup>

|                       | <i>Modelo Explícito</i>  | <i>Modelo Continuo</i>  | <i>Modelo Combinado</i>   |
|-----------------------|--|---|---|
| <i>Representación</i> | Las moléculas de disolventes se tratan explícitamente.<br> | Representado como un medio continuo de disolvente.<br> | Representación combinada de soluto-solvente.<br>            |
| <i>Méritos</i>        | Es generalmente más precisa y detallada la interacción atómica de soluto-disolvente.   | Simple y económico de calcular.   | Se incluye la interacción atómica de soluto-solvente y los efectos masivos. Generalmente da mejores resultados que los modelos continuos puros. |
| <i>Desventajas</i>    | Computacionalmente costoso.  | Ignora interacciones específicas de enlace de hidrógeno.  | Cálculo costoso en comparación con los modelos continuos y menos exigente en comparación con el tratamiento explícito completo.                 |

En la literatura se han propuesto varios modelos para tratar moléculas de disolventes en diferentes situaciones. En estos la energía libre de solvatación se define como el cambio de energía libre para transferir una molécula de soluto del vacío al disolvente. Se puede considerar que tiene tres componentes:

$$\Delta G_{\text{solvatación}} = \Delta G_{\text{electrostática}} + \Delta G_{\text{vdw}} + \Delta G_{\text{cavidad}} \quad (5.45)$$

siendo el primer término la contribución electrostática a la energía libre de solvatación que contribuye a la formación de disolventes polares y solutos cargados. El segundo término es la interacción de van der Waals entre el soluto y el solvente y puede dividirse a su vez en  $\Delta G_{repulsivo}$  y  $\Delta G_{dispersivo}$ . El tercer término es la energía libre requerida para formar la cavidad del soluto dentro del disolvente, esta se compone de la penalización entrópica asociada a la reorganización del disolvente alrededor del soluto y de la energía necesaria para crear la cavidad. En el modelado del efecto del disolvente, se utilizan diferentes modelos que involucran la mecánica clásica y cuántica; los cuales van desde una descripción detallada a nivel atómico hasta métodos de continuidad basados en el campo de reacción.<sup>99</sup>

#### 5.2.7.1. Modelo de solvente continuo

En un modelo de solvatación continua la estructura molecular del disolvente es ignorada, y el disolvente es modelado como un dieléctrico<sup>\*\*\*\*</sup> continuo de extensión infinita rodeado por una cavidad que contiene la molécula de soluto. El dieléctrico continuo es caracterizado por una constante dieléctrica  $\epsilon_r$  (también llamada permitividad relativa), cuyo valor es la constante dieléctrica experimental del disolvente a temperatura y presión de la disolución. La molécula de soluto puede ser tratada clásicamente como un conjunto de cargas que interactúan con el dieléctrico, o por un tratamiento mecánico-cuántico, donde la función de onda electrónica y la densidad de probabilidad electrónica de la molécula de soluto pueden cambiar al pasar de la fase gaseosa a la fase de disolución; con el fin de lograr la autoconsistencia entre la distribución de la carga y el campo de reacción del disolvente. Cualquier tratamiento en el que se logre dicha autoconsistencia se denomina método de campo de reacción autoconsistente (SCRF, por sus siglas en inglés).<sup>97</sup>

Cramer, Truhlar y colaboradores desarrollaron una serie de modelos de solvatación continua SMx, donde SM significa modelo de solvatación (por sus siglas en inglés) y x = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, D es la versión. El modelo SMD (D significa

---

<sup>\*\*\*\*</sup> Material que no conduce la electricidad.

densidad), se basa en la interacción de la densidad de carga de electrones de la molécula del soluto, con el disolvente representado como un continuo. Este método es aplicable a cualquier disolvente del que se conozcan, la  $\epsilon_r$ , el índice de refracción, la tensión superficial aparente y los parámetros de acidez y basicidad.<sup>97</sup> Por lo que, se denomina modelo de solvatación universal. SMD separa la energía libre de solvatación del estado estándar<sup>†††</sup> en tres componentes principales:

$$\Delta G^{\circ}_S = \Delta G_{ENP} + \Delta G_{CDE} + \Delta G^{\circ}_{concentración} \quad (5.46)$$

donde el primer componente denota los componentes electrónicos (E), nuclear (N) y de polarización (P) de la energía libre. El segundo componente hace referencia a la energía libre asociada con la cavidad (C), la dispersión (D) y a los posibles cambios conformacionales de la estructura (E) del disolvente. Por último, el tercer término se asocia al cambio de concentración entre las fases gaseosa y líquida, ambas en estado estándar.<sup>100</sup> Los cálculos de este trabajo hacen uso de este modelo de solvatación.

### 5.2.8. Dinámica de las reacciones químicas

Una molécula está formada por un conjunto de núcleos atómicos (cargas positivas) inmersos en un "mar" de electrones (cargas negativas) que están deslocalizados alrededor de los núcleos según la correspondiente función de onda electrónica de la molécula. Las interacciones electrostáticas entre las partículas cargadas son la principal causa de la cohesión en las moléculas. La posición relativa de los núcleos (la configuración nuclear) y la distribución de los electrones en ellos determinan el conjunto de enlaces de la molécula. Adicionalmente, las moléculas no son entidades estáticas, sino que están en movimiento continuo: tienen 3 grados de libertad de traslación, 3 de rotación (sólo 2 si la molécula es lineal) y  $3n - 6$  ( $3n - 5$  si la molécula es lineal) de vibración, siendo  $n$  el número de núcleos de la molécula. Durante una reacción química ocurre una reorganización de los enlaces entre los

---

<sup>†††</sup> El estado estándar del soluto es el estado ficticio del soluto a una concentración de 1 M en el disolvente, pero con el soluto experimentando sólo interacciones con moléculas de disolvente y no con otras moléculas de soluto (como ocurriría en una solución idealmente diluida). El estado estándar de fase gaseosa de soluto es el estado ficticio de un soluto gaseoso puro a una concentración de 1 M sin interacciones intermoleculares (como en un gas ideal).<sup>97</sup>

núcleos de la molécula o moléculas que intervienen, de manera que algunos se rompen y/u otros se forman. El problema consiste en saber cómo se produce esta reorganización de los enlaces químicos y su velocidad. Por ejemplo, en el caso de una reacción bimolecular elemental, es decir, de una reacción en la cual la molécula (o moléculas) del producto (o productos) se forman directamente como resultado de la colisión entre las dos moléculas de reactivos, tal como:



la velocidad de reacción, medida como el número de moléculas de productos que se forman por unidad de volumen y de tiempo, puede ser escrita como:

$$v = \frac{1}{c} \frac{d[C]}{dt} = \frac{1}{d} \frac{d[D]}{dt} = -\frac{1}{a} \frac{d[A]}{dt} = -\frac{1}{b} \frac{d[B]}{dt} = k[A]^\alpha [B]^\beta \quad (5.48)$$

donde la velocidad ( $v$ ) es directamente proporcional a la concentración de los reactivos y la constante de velocidad ( $k$ ) de la reacción (quien depende de la temperatura). Aquí los exponentes ( $\alpha$  y  $\beta$ ) indican el orden de la reacción respecto al reactivo y la suma de ambos proporciona el orden global de la reacción. Además  $k$  es única para cada reacción.

La primera descripción de la variación de la velocidad de una reacción química con la temperatura se debe a Arrhenius quien, en 1889, basándose en medidas experimentales y siguiendo el trabajo previo de van't Hoff, formuló la ecuación que lleva su nombre:

$$k = Ae^{-E_a/RT} \quad (5.49)$$

siendo  $E_a$  la energía de activación,  $A$  el factor preexponencial,  $R$  la constante de los gases y  $T$  la temperatura absoluta. Esta ecuación es macroscópica y estrictamente experimental.

En teoría, a partir de la información extraída de la dinámica se podría calcular cualquier propiedad cinética, sin embargo, se tendrían que tomar en cuenta todas las colisiones que ocurren para obtener un valor preciso de  $k$  lo que es inviable en la práctica para reacciones con más de 4 o 5 núcleos, especialmente si existe una barrera energética. Como única alternativa se utiliza la Teoría del Estado de Transición (TET), una aproximación estadística a la dinámica, formulada inicialmente en 1935 por Eyring, Evans y Polanyi.

### 5.2.8.1. Teoría del estado de transición

La teoría convencional del estado de transición presupone que la aproximación de Born-Oppenheimer es válida y está ligada al concepto de estado de transición de una superficie de energía potencial. El estado de transición (ET) es la estructura que divide el camino de la reacción y es un punto de silla, esto es, un intermedio entre reactivos y productos.

Esta teoría se aplica cuando los reactivos están en equilibrio térmico a una temperatura  $T$ , es decir, cuando las moléculas de reactivos se distribuyen entre todos los estados posibles según una distribución tipo Maxwell-Boltzmann. Donde para llegar a la expresión de la constante de velocidad  $k(T)$  se usan dos hipótesis:<sup>101</sup>

1°. Las moléculas que han cruzado el ET en el sentido reactivos→productos no pueden formar nuevamente los reactivos, estas continuarán a formar los productos.

2°. En el ET el movimiento en la dirección reactivos→productos puede ser separado de los demás grados de libertad y es posible tratarlo como una traslación clásica.

De acuerdo con esto una reacción se puede modelar como un proceso de dos pasos:



donde la especie  $AB^\ddagger$  representa el ET (el signo  $\ddagger$  se utiliza para marcar variables asociadas al estado de transición). La expresión de la constante de equilibrio entre los reactivos y el ET es:

$$K_c^\ddagger = \frac{\frac{[AB^\ddagger]}{c^\circ}}{\left(\frac{[A]}{c^\circ}\right)\left(\frac{[B]}{c^\circ}\right)} = \frac{[AB^\ddagger]c^\circ}{[A][B]} \quad (5.51)$$

siendo  $c^\circ$  la concentración del estado estándar. En la suposición de un equilibrio entre los reactivos y ET, se puede obtener la expresión de  $[AB^\ddagger]$  a partir de la ecuación (5.51) y la velocidad diferencial de uno de los reactivos ( $A$  este caso) que se hace cero, consistente con el equilibrio:

$$\frac{d[A]}{dt} = -k_1[A][B] + k_{-1}[AB^\ddagger] = 0 \Rightarrow [AB^\ddagger] = \frac{k_1}{k_{-1}}[A][B] = \frac{K_c^\ddagger}{c^\circ}[A][B] \quad (5.52)$$

Dado que si se representa la velocidad diferencial de formación del producto se encuentra  $[AB^\ddagger]$ , este se puede sustituir por la expresión obtenida arriba:

$$\frac{d[P]}{dt} = k_2[AB^\ddagger] = \frac{k_2 K_c^\ddagger}{c^\circ}[A][B] \quad (5.53)$$

$k_2$  está asociada a la velocidad de decaimiento del ET (el cual no es estable) y, por tanto, a la frecuencia de vibración asociada a la tensión del enlace,  $\nu$ . Esta constante es igual a  $\nu$  sólo si cada vez que se forma un ET, se disocia resultando la formación de producto. Sin embargo, es posible que ocurra la reacción inversa donde solamente una fracción de ET continuará según la coordenada de reacción y dará la formación de producto. Para tener en cuenta esta posibilidad, se incluye un término referido como coeficiente de transmisión,  $\kappa$ , en la definición de  $k_2$ , que se puede sustituir en la ecuación (5.53):<sup>102</sup>

$$k_2 = \kappa \nu \Rightarrow \frac{d[P]}{dt} = \frac{\kappa \nu K_c^\ddagger}{c^\circ}[A][B] \quad (5.54)$$

El factor  $\kappa$  también incluye el fenómeno mecánico cuántico del tunelaje, esto es, las moléculas que no tienen suficiente energía para pasar sobre ET pueden atravesar la barrera y aparecer en el lado de productos.<sup>79</sup> Si no se indica lo contrario, entonces,  $\kappa \approx 1$ , lo que significa que casi todos los ET conducen a los productos.<sup>103</sup> De acuerdo con la termodinámica estadística,  $\nu$  es la frecuencia con la que cualquier ET se convierte en un producto a una temperatura dada, y tiene la siguiente representación:<sup>104</sup>

$$\nu = \frac{k_B T}{h} [s^{-1}] \quad (5.55)$$

en esa ecuación  $k_B$  es la constante de Boltzmann y  $h$  la constante de Planck. Además, de la termodinámica se sabe que  $K_c^\ddagger$  se relaciona con el correspondiente cambio de la energía de Gibbs, también conocida como energía de activación, usando la siguiente definición termodinámica:

$$\Delta^\ddagger G^\circ = -RT \ln K_c^\ddagger \quad \text{y} \quad \Delta^\ddagger G^\circ = \Delta G^\circ_{ET} - \sum \Delta G^\circ_{reactivos} \quad (5.56)$$

Con esta definición de  $K_c^\ddagger$ , y tomando  $\kappa = 1$  la constante de velocidad de la reacción se convierte en:

$$k(T) = \frac{k_B T}{hc^\circ} e^{-\Delta^\ddagger G^\circ / RT} \quad (5.57)$$

Asimismo, si se sustituye  $\Delta^\ddagger G^\circ = \Delta^\ddagger S^\circ - T\Delta^\ddagger S^\circ$  en la ecuación anterior, obtenemos la denominada Ecuación de Eyring, resultado de TET, que proporciona una conexión entre la constante de velocidad de la formación de producto y los parámetros moleculares de las especies implicadas en la reacción:

$$k(T) = \frac{k_B T}{hc^\circ} e^{\Delta^\ddagger S^\circ / R} e^{-\Delta^\ddagger H^\circ / RT} \quad (5.58)$$

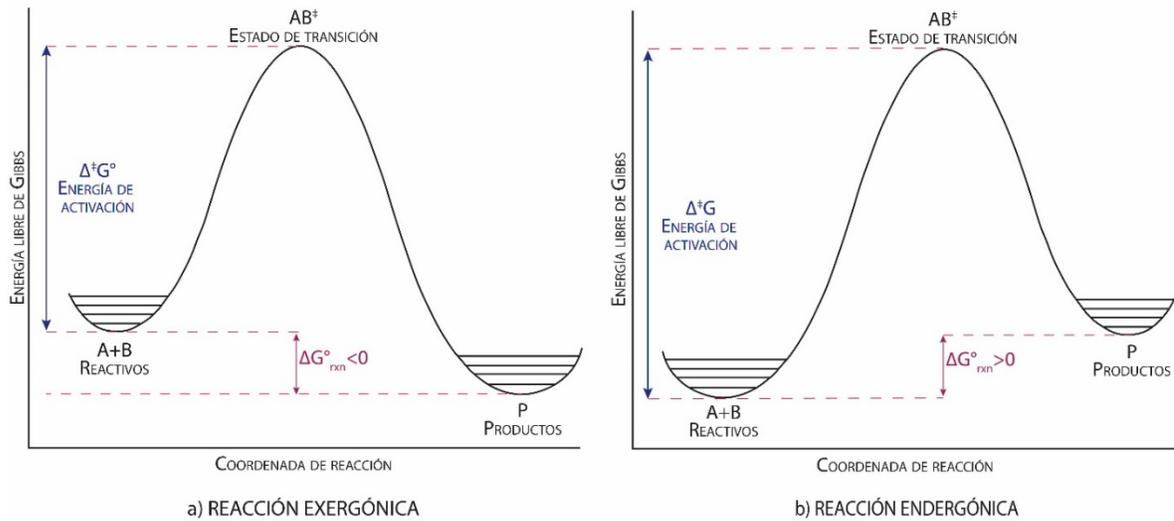


Figura 5-7. Representación de las curvas de energía potencial en la TET para una a) reacción exergónica y una b) reacción endergónica

Al igual que  $\kappa$ , se puede añadir a la ecuación anterior la degeneración de la ruta de reacción  $\sigma$ , ya que esta toma en cuenta el número de trayectos de reacción equivalentes, en otras palabras, considera que un proceso puede ocurrir de maneras diferentes pero equivalentes. Una manera de conseguir este término es etiquetar todos los átomos idénticos y contar el número de arreglos diferentes pero equivalentes que se pueden obtener girando (pero no reflejando) la molécula.<sup>105</sup> Por consiguiente,  $k(T)$  queda como:

$$k(T) = \sigma \kappa \frac{k_B T}{hc^\circ} e^{\Delta^\ddagger S^\circ / R} e^{-\Delta^\ddagger H^\circ / RT} \quad (5.59)$$

### 5.2.8.2. Teoría de Marcus

Desde finales de la década de 1940, el campo de los procesos de transferencia electrónica (TE) ha crecido enormemente<sup>106</sup> debido a su influencia dentro de fenómenos fisicoquímicos y biológicos, tal como en el mecanismo antioxidante primario en donde no hay un ET necesario para calcular  $\Delta^\ddagger G^\circ$ .<sup>105</sup> En consecuencia, en la década de 1950, Rudolph A. Marcus desarrolló una teoría que proporciona un método para calcular la energía de activación de una reacción utilizando un modelo parabólico.

En esta teoría las energías de los reactivos, el estado de transición y los productos pueden describirse mediante la intersección de las funciones de energía potencial parabólica y por medio del modelo gráfico de ambas superficies de energía (una de reactivos y otra de productos) se obtienen valores numéricos para la energía de reorganización ( $\lambda$ ) y el cambio en la energía libre de Gibbs. Estos dos valores pueden utilizarse para calcular la energía de activación de acuerdo con la ecuación de Marcus, la cual proporciona un medio para la evaluación numérica de la relación entre  $\Delta G^\circ_{rxn}$  y  $\Delta^\ddagger G^\circ$ . Esta ecuación propone que para un proceso de reacción de un solo paso existe una relación entre la exotermia o endotermia neta de la reacción y una energía asociada con el proceso de activación llamada barrera intrínseca, es decir, para una serie de reacciones relacionadas existe una relación predecible entre  $\Delta G^\circ_{rxn}$  y  $\Delta^\ddagger G^\circ$ . Esta relación puede ser expresada por la siguiente ecuación:<sup>84</sup>

$$\Delta^\ddagger G^\circ = \frac{\lambda}{4} \left( 1 + \frac{\Delta G^\circ_{rxn}}{\lambda} \right)^2 \quad (5.60)$$

donde  $\frac{\lambda}{4}$  es la barrera intrínseca de reacción y  $\Delta^\ddagger G^\circ$  y  $\Delta G^\circ_{rxn}$  son la energía libre y la energía de activación de la reacción bajo nuestra consideración.<sup>84</sup> Marcus describe  $\lambda$  como la energía necesaria para alterar la estructura de los reactivos solvatados para que coincida con la de los productos solvatados, antes de que se produzca la transferencia de electrones<sup>107</sup> y puede ser calculada por medio de la expresión:

$$\lambda = \Delta E - \Delta G^\circ_{rxn} \quad (5.61)$$

siendo  $\Delta E$  la diferencia entre la energía electrónica vertical de reactivos y productos<sup>105</sup>, obtenida computacionalmente por un cálculo de punto simple en la geometría de los reactivos.<sup>71</sup>

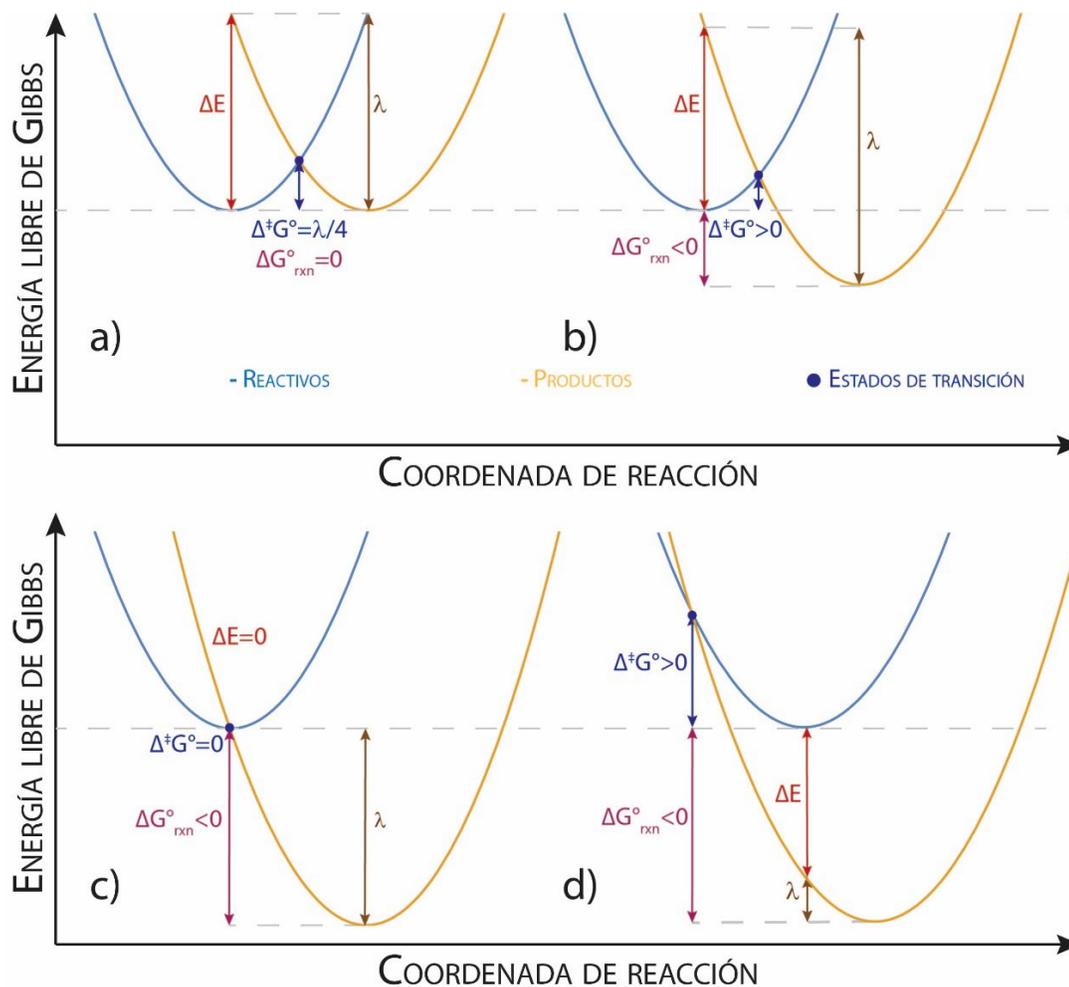


Figura 5-8. Diagramas de coordenadas de reacción de transferencia electrónica usados en la teoría de Marcus para a) el caso más simple, b) región normal, c) sin activación y d) región invertida (tomado y modificado de 86)

De igual forma, la ecuación de Marcus nos dice que podemos esperar una correlación entre la exotermia de la reacción (o endotermia) y la velocidad además de predecir que la barrera aumenta nuevamente para reacciones muy exotérmicas. Esto se conoce como la región invertida.<sup>84</sup>

Una vez que se conoce la energía de activación, se puede sustituir en la ecuación de Arrhenius o Eyring para calcular la constante de velocidad para una reacción de transferencia de electrones.

### 5.2.8.3. Reacciones controladas por difusión

Con reacciones en solución, incluso cuando el medio es químicamente inerte, el disolvente ejercerá un efecto como consecuencia de ser una fase condensada, con sus moléculas muy próximas entre sí.<sup>104</sup> En estas reacciones las moléculas reactivas empujan su camino a través del disolvente, por lo que su frecuencia de encuentro es menor que en un gas. Sin embargo, debido a que la molécula migra lentamente de un lugar, dos moléculas reactivas encontradas una cerca de otra permanecen cerca por más tiempo que en un gas. Esta persistencia de una molécula cerca de otra debido a la presencia de moléculas de disolventes se denomina efecto jaula.<sup>103</sup> En cada encuentro entre reactivos, las moléculas sufren al menos cuatro colisiones hasta lograr escapar de la jaula de moléculas de disolvente que las rodean, y la frecuencia de estos encuentros es aproximadamente 100 veces menor que las colisiones de las mismas moléculas en fase gaseosa. Con base en esto, una reacción en solución puede ser dividida en tres pasos: (1) difusión de reactivos desde la solución hasta la distancia de colisión; (2) reacción química de las especies reactivas dentro de la jaula del disolvente; y (3) difusión de los productos desde la jaula del disolvente hasta la solución.<sup>104</sup> Por lo tanto, la energía de activación de reacciones en solución es más complicada ya que se debe considerar la energía de todo el conjunto local de moléculas reactivas y disolvente.<sup>103</sup>

En consecuencia, existen dos casos límites para las reacciones en solución, cuando la velocidad de una reacción está controlada por la velocidad a la que las moléculas reactivas se encuentran en la solución se denominan reacciones controladas por difusión, en cambio, cuando la velocidad de una reacción es controlada por la velocidad de acumulación de energía suficiente para que los reactivos reaccionen, la reacción es controlada por activación. Una indicación de que una reacción está controlada por difusión es que su constante de velocidad es del orden de  $10^9 \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$  o superior,<sup>103</sup> mientras que valores menores de constante de velocidad son indicativos de control de activación.

Para el caso de las reacciones con constantes de velocidad cercanas al límite de difusión, de acuerdo con la teoría de Collins-Kimball, se realiza la corrección a la constante:

$$k_{app} = \frac{k_D k^{TET}}{k_D + k^{TET}} \quad (5.62)$$

donde  $k^{TET}$  es la constante de velocidad obtenida a partir de la TET y  $k_D$  es la constante de rapidez de Smoluchowski para una reacción bimolecular irreversible controlada por difusión:

$$k_D = 4\pi R D_{AB} N_A \quad (5.63)$$

siendo  $R$  es la distancia de reacción (o la suma de los radios de los reactivos),  $N_A$  es el número de Avogadro y  $D_{AB}$  es el coeficiente de difusión mutua de los reactivos:

$$D_{AB} = D_A + D_B \quad (5.64)$$

En la ecuación anterior,  $D_A$  y  $D_B$  se calculan a partir de la aproximación de Stokes-Einstein como:

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta\alpha} \quad (5.65)$$

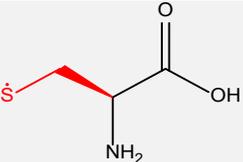
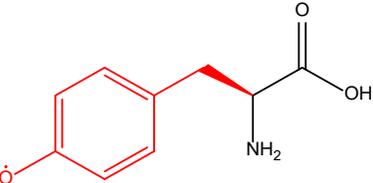
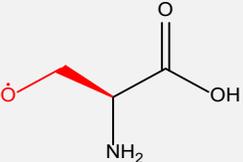
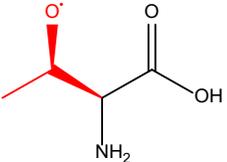
donde  $k_B$  es la constante de Boltzmann,  $T$  es la temperatura,  $\eta$  es la viscosidad del disolvente (para el agua  $\eta = 8.91 \times 10^{-4} \text{ Pa s}$ ) y  $\alpha$  es el radio del soluto.<sup>105</sup>

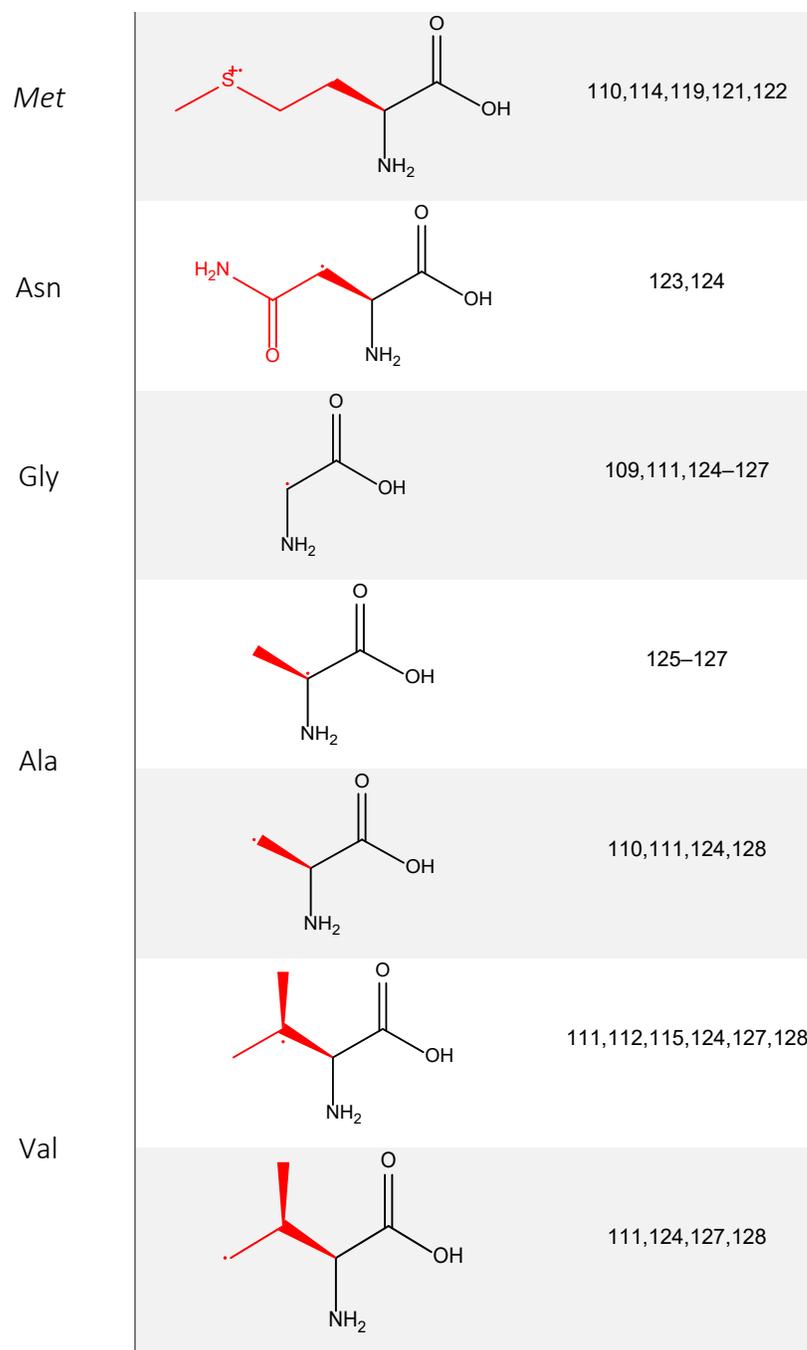
## 6. Metodología

La Química Computacional produce resultados confiables, siempre y cuando se use una metodología adecuada para el estudio de cada sistema particular. Además su aplicabilidad a procesos de estrés oxidativo es amplia y permite evaluar la capacidad antioxidante de compuestos químicos.<sup>108</sup> Por lo que, para llegar al objetivo general planteado, el procedimiento se describe a continuación:

- ♦ Primeramente, se precisaron los sistemas de estudio a reaccionar con el anión radical superóxido, para ello se buscaron en la literatura residuos de aminoácidos dañados los cuales se muestran en la Tabla 6-1.

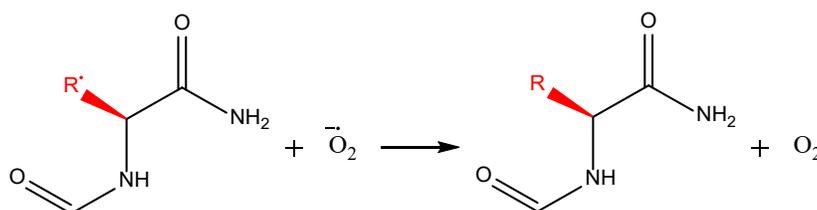
Tabla 6-1. Radicales libres de aminoácidos

| Aminoácido | Radical   | Referencia      |
|------------|---|-----------------|
| Cys        |  | 109-115         |
| Tyr        |  | 110,113,116-119 |
| Ser        |  | 115,120         |
| Thr        |  | 120             |



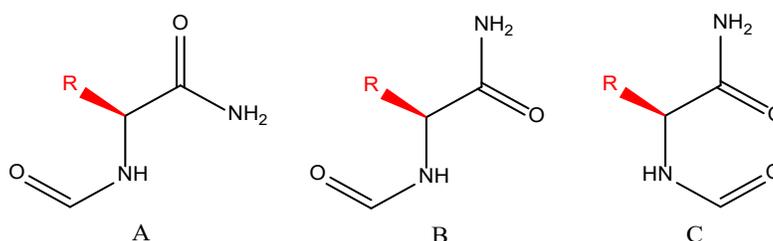
- ✦ Luego, debido a que algunos compuestos tienen propiedades ácido-base, es importante identificar cuál de sus formas está presente a pH fisiológico (7.4). Por lo que se calcularon las fracciones molares para las especies que lo requerían.
- ✦ Después, de acuerdo con la teoría descrita en el capítulo anterior, se modelaron computacionalmente los mecanismos SET de reactivos y

productos; aquí los radicales libres de aminoácidos se adaptaron simulando modelos de tripéptidos. Todos los cálculos se realizaron con el programa Gaussian 09<sup>129</sup>, por medio de la Teoría de los funcionales de la densidad, utilizando el funcional M06-2x<sup>130</sup> y la base 6-311+G(d,p). Para cada una de las estructuras modeladas se optimizó su geometría y se introdujeron los efectos de disolvente en los cálculos utilizando el método de disolvente continuo SMD<sup>100</sup>, empleando agua como disolvente.



*Figura 6-1. Mecanismo de transferencia electrónica general para la reparación de fragmentos de proteína (R corresponde a la cadena de cada uno de los aminoácidos)*

- ◆ Además, cada cálculo se llevó a cabo varias veces modificando la geometría de las moléculas de los péptidos hasta encontrar la más estable conforme a la Figura 6-2.



*Figura 6-2. Conformaciones generales utilizadas en los cálculos, donde R representa tanto al radical libre como el residuo de aminoácido reparado*

- ◆ Finalmente, puesto que para el estudio de antioxidantes tipo I, se desarrolló un protocolo computacional conocido como QM-ORSA<sup>105</sup> (por sus siglas en inglés, Quantum mechanics-based test for overall free radical scavenging activity), este fue llevado a cabo para los cálculos cinéticos como sigue:
  - 1º. Se calcularon las energías de activación, en cada reacción propuesta, por medio de la Teoría de Marcus acorde con las ecuaciones (5.60) y (5.61).

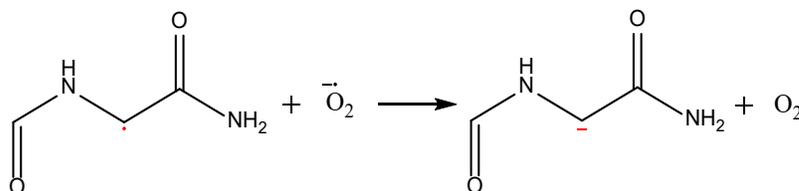
- 2°. Se calcularon las constantes de velocidad de cada reacción conforme a la ecuación (5.59).
- 3°. Se corrigieron las constantes de velocidad de las reacciones cercanas al límite de difusión según la Teoría de Collins-Kimball por medio de las ecuaciones (5.62), (5.63), (5.64) y (5.65).
- 4°. Se incluyeron las fracciones molares de las especies multiplicando la constante de velocidad de cada reacción con ellas.

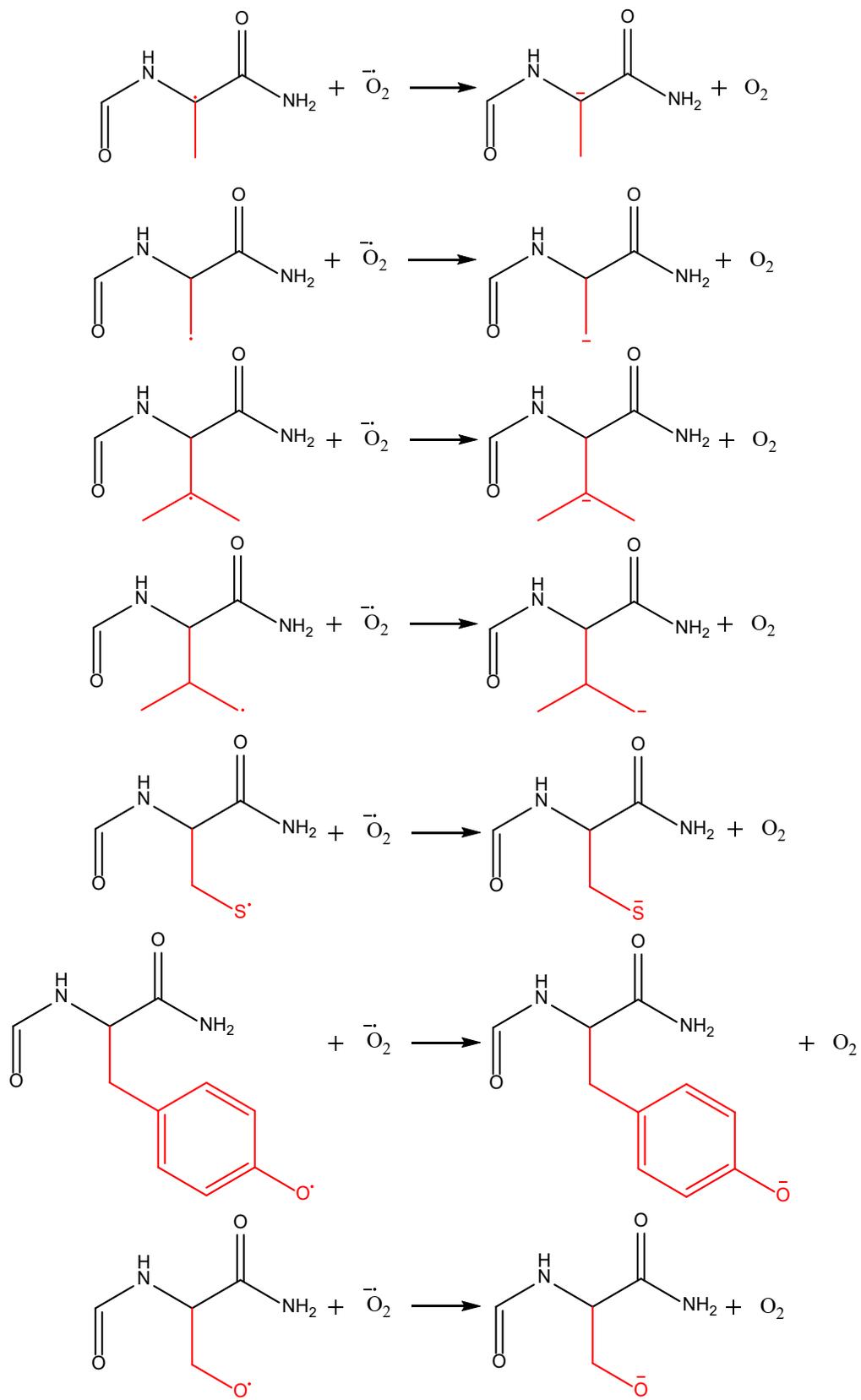
## 7. Resultados y discusión

---

Un antioxidante es capaz de reaccionar con radicales libres y, en algunos casos, reparar macromoléculas biológicas. La actividad antioxidante está determinada, principalmente, por la reactividad de la sustancia frente a radicales libres, su capacidad para acceder al sitio de reacción y la estabilidad de los productos formados. Uno de los principales mecanismos de acción es la transferencia electrónica. De modo que, es posible estudiar la capacidad antioxidante, en este caso, haciendo uso de una estrategia computacional.

Los aminoácidos son los bloques de construcción de las proteínas, y estas últimas, son indispensables en las funciones biológicas. En este trabajo, la estructura típica de los aminoácidos estudiados se modificó añadiéndoles un grupo formilo para bloquear el grupo amino terminal y un grupo amino del lado del grupo carboxilo, obteniendo así, la representación de un dipéptido formado por dos enlaces peptídicos y un aminoácido. Esto se hizo con el fin de asemejar que cada sistema de estudio se encuentra unido a otros residuos de aminoácidos en ambos extremos, dicho de otra manera, simular que los sistemas estudiados son parte de una proteína, evitando el efecto de los grupos iónicos en el aminoácido libre; por lo tanto, las posibles posiciones de daño importantes para la investigación son debidas a la oxidación de las cadenas laterales y fueron reportadas en el capítulo anterior. En la Figura 7-1 se muestran los esquemas de reacción propuestos para la reparación de los péptidos.





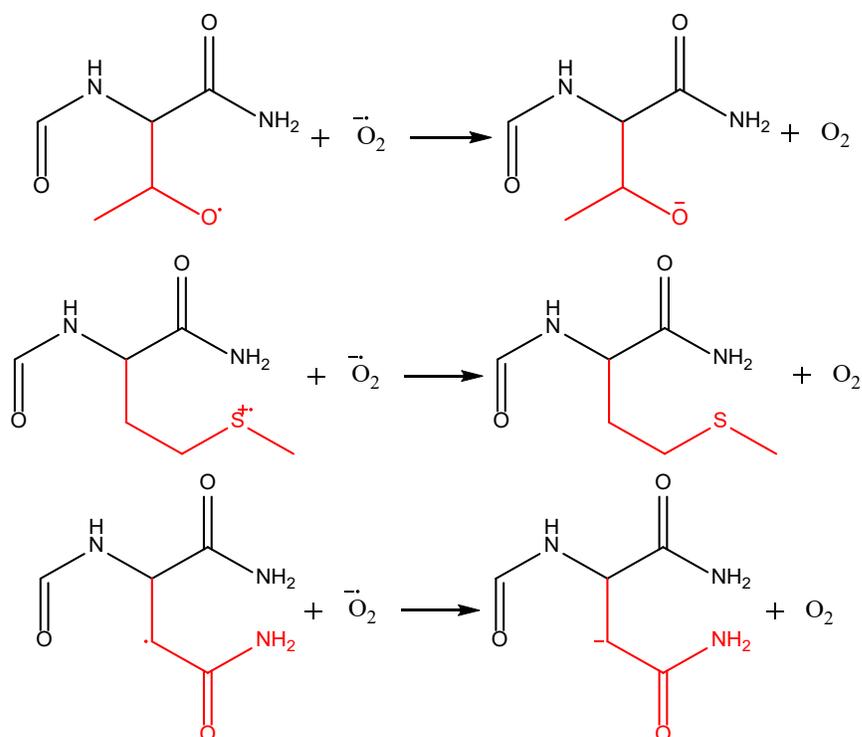
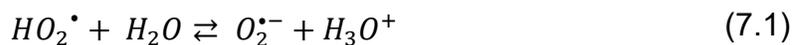


Figura 7-1. Esquemas de reacción propuestos para la reparación de los modelos de tripéptidos

### 7.1. Equilibrios ácido-base

Primeramente, es importante tener en cuenta las condiciones del medio de reacción y, en consecuencia, las especies involucradas en las reacciones. Por lo tanto, las propiedades ácido-base que se tomarían en cuenta, serían debidas a la oxidación de la cadena lateral de los aminoácidos. Estos aminoácidos (de acuerdo con los que se utilizaron en el estudio) son: Cys, Ser, Thr y Tyr; sin embargo, su deshidrogenación se efectuó exactamente en la posición de la formación de los radicales reportados. Debido a lo cual, la única especie a la que se le consideraron sus propiedades ácido-base fue al radical anión superóxido quien se encuentra en equilibrio con el radical hidropéroxilo según la ecuación (7.1):



La fracción molar ( $\alpha$ ) de la especie ácido-base del radical anión superóxido (radical hidropéroxilo), en solución acuosa a  $pH = 7.4$ , se obtuvo teóricamente considerando el  $pka = 4.88$  del radical  $HO_2^{\bullet}$  y, con esto, calculando el porcentaje de  $\alpha$  para cada especie con base en la ecuación (7.2):

$$\alpha_{\text{superóxido}} = \frac{K_a}{K_a + [H^+]} \quad \text{y} \quad \alpha_{\text{hidroperóxido}} = \frac{[H^+]}{K_a + [H^+]} \quad (7.2)$$

A partir de las expresiones anteriores se llegó a un  $\% \alpha_{\text{superóxido}} = 99.70$ , congruente con la abundancia del hidroperóxido mencionada a ese pH en el capítulo 3 y que se puede ver reflejado en la Figura 7-2. Este dato se utilizó en todos los cálculos cinéticos para tomar en cuenta la abundancia relativa de la especie al pH de interés, puesto que esta especie es la que se empleó como reparadora de todos los péptidos.

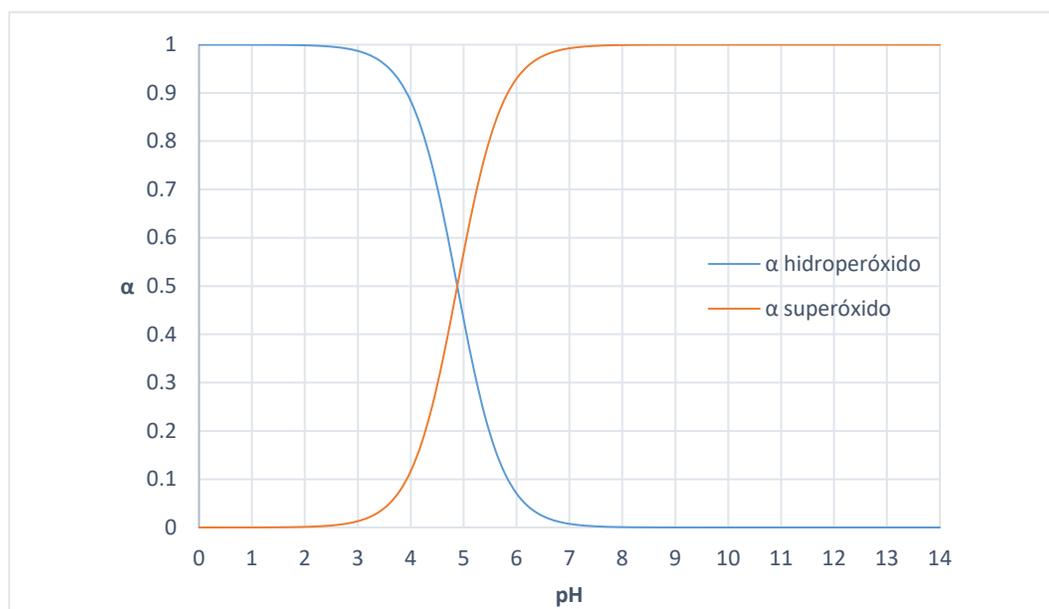


Figura 7-2. Diagrama de  $\alpha$  para  $\text{HO}_2^{\cdot}/\text{O}_2^{\cdot-}$

## 7.2. Geometrías moleculares

Como en todos los radicales, las especies dañadas de aminoácidos se encuentran en su forma desprotonada al ser reactivos, esta desprotonación se llevó a cabo en diferentes posiciones dentro de la cadena lateral dependiendo del aminoácido. En aminoácidos alifáticos la desprotonación ocurre en alguno de los carbonos, en cambio, en aminoácidos que contienen un átomo diferente a carbono e hidrógeno (como azufre u oxígeno) se lleva a cabo en el átomo en el que difieren a excepción del aminoácido Asn (Tabla 6-1).

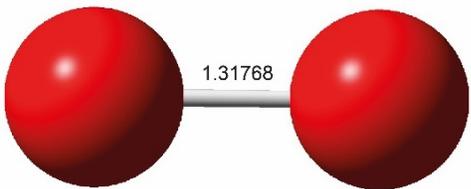
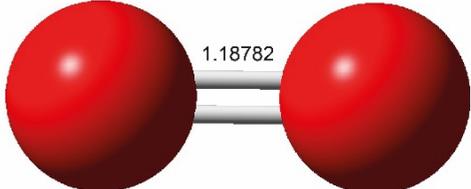
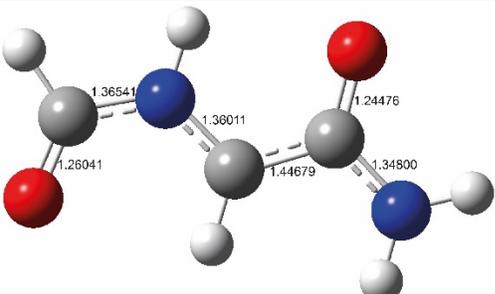
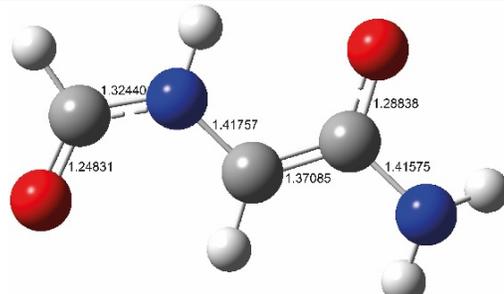
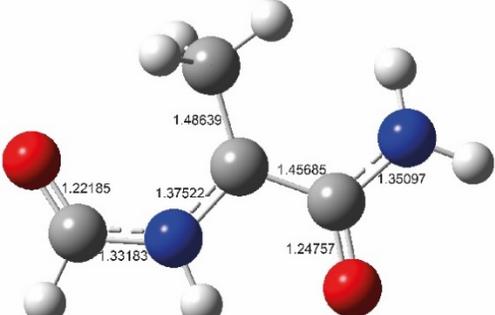
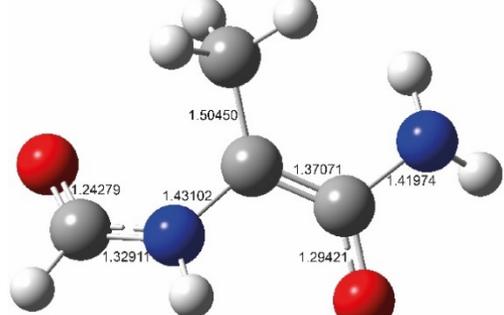
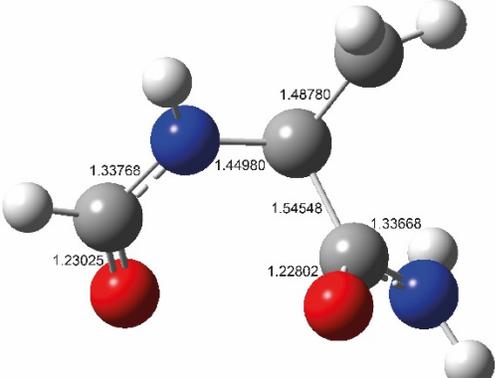
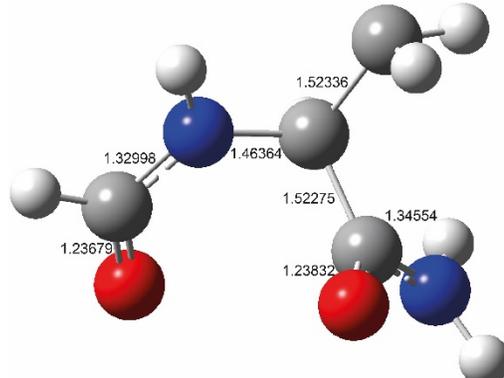
Previo a realizar cualquier otro cálculo se determinó la estructura molecular de cada una de las especies químicas involucradas en el estudio. Para ello se

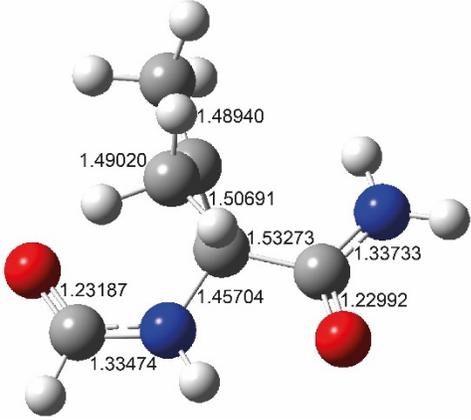
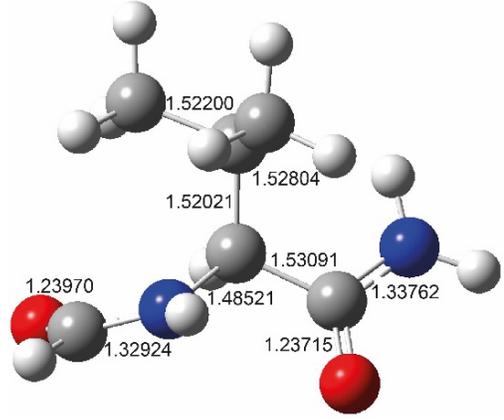
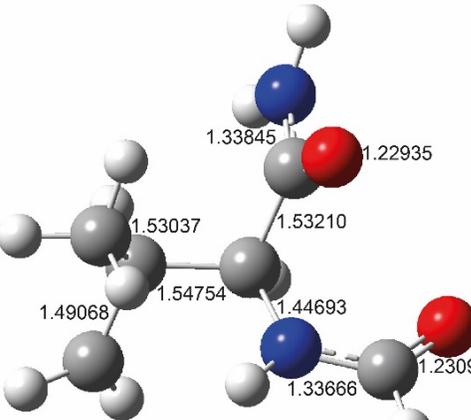
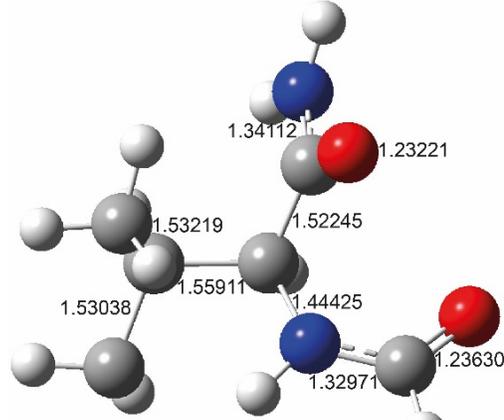
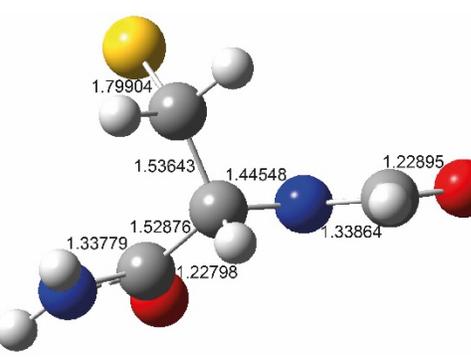
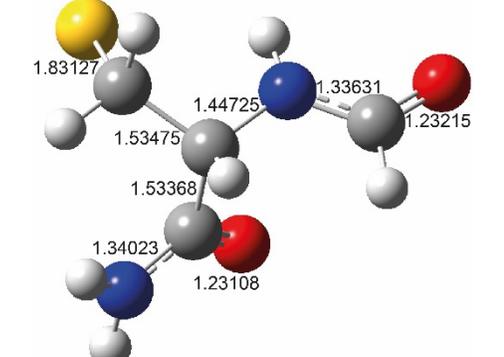
optimizaron todas las especies en medio acuoso de acuerdo con las geometrías y especificaciones propuestas en la metodología. La multiplicidad y carga para los péptidos radicales fue 2 y 0, respectivamente, salvo para el péptido radical de Met con una carga +1, mientras que, para los péptidos reparados la multiplicidad fue 1 y la carga -1 y en el caso del péptido de Met la carga fue 0. Las energías libres ( $G^\circ$ ) más bajas encontradas para las estructuras de los péptidos, en cada una de las tres geometrías, se muestran en la Tabla 7-1. Las moléculas utilizadas para los estudios posteriores se encuentran sombreadas en color azul al ser las más estables, por lo que, en la Tabla 7-2 se observan las geometrías correspondientes tanto a los reactivos como los productos optimizados a partir de estas junto con longitudes de enlace (Å), ángulos diedros ( $^\circ$ ) y otras características importantes para el estudio. Todas las optimizaciones geométricas localizaron mínimos en las PES verificados por los cálculos de frecuencias.

Tabla 7-1.  $G^\circ$  para los péptidos radicales en cada geometría propuesta

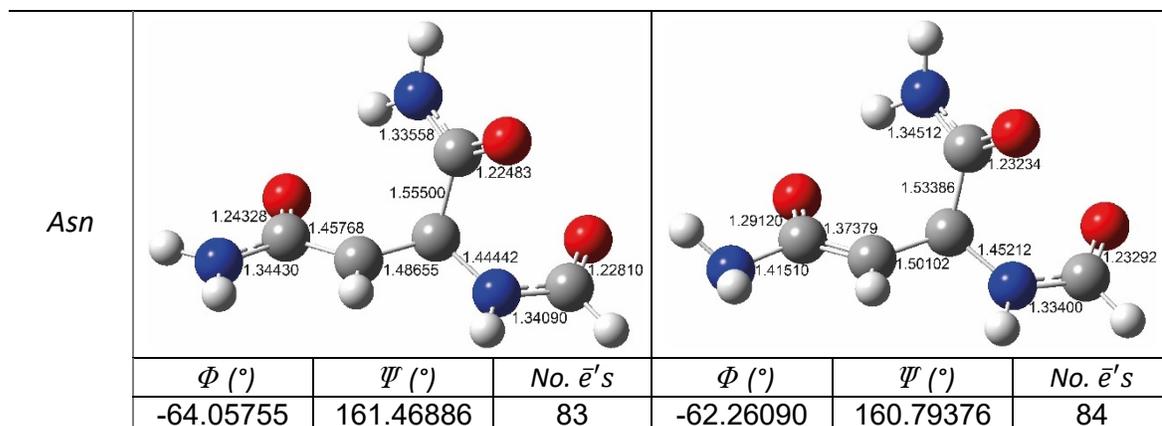
| <b>Péptido</b>                          | <b>Geometría A<br/><math>G^\circ (E_h)</math></b> | <b>Geometría B<br/><math>G^\circ (E_h)</math></b> | <b>Geometría C<br/><math>G^\circ (E_h)</math></b> |
|---|---|---|---|
| <i>GlyC<math>^\bullet_\alpha</math></i> | -377.195748                                       | -377.196632                                       | -377.185737                                       |
| <i>AlaC<math>^\bullet_\beta</math></i>  | -416.476764                                       | -416.476929                                       | -416.471064                                       |
| <i>AlaC<math>^\bullet_\alpha</math></i> | -416.448668                                       | -416.451620                                       | -416.451947                                       |
| <i>SerO<math>^\bullet</math></i>        | -495.015774                                       | -495.019836                                       | -495.018789                                       |
| <i>ValC<math>^\bullet_\gamma</math></i> | -495.009213                                       | -495.009319                                       | -495.009943                                       |
| <i>ValC<math>^\bullet_\beta</math></i>  | -814.667531                                       | -814.666807                                       | -814.666284                                       |
| <i>ThrO<math>^\bullet</math></i>        | -722.643495                                       | -722.644601                                       | -722.644857                                       |
| <i>AsnC<math>^\bullet_\alpha</math></i> | -491.663341                                       | -491.665105                                       | -491.664971                                       |
| <i>TyrO<math>^\bullet</math></i>        | -530.944707                                       | -530.946230                                       | -530.945031                                       |
| <i>CysS<math>^\bullet</math></i>        | -893.623838                                       | -893.627609                                       | -893.623184                                       |
| <i>MetS<math>^{\bullet+}</math></i>     | -585.149580                                       | -585.152205                                       | -585.152292                                       |

Tabla 7-2. Geometrías optimizadas y estables para cada reactivo y producto

| Especie      | Reactivo  |            |                 | Producto   |            |                 |
|--------------|---|------------|-----------------|--|------------|-----------------|
| Oxy          |    |            |                 |    |            |                 |
|              | Multiplicidad   | Carga      | No. $\bar{e}'s$ | Multiplicidad  | Carga      | No. $\bar{e}'s$ |
|              | 2   | -1         | 17              | 3  | 0          | 16              |
| Gly          |    |            |                 |    |            |                 |
|              | $\Phi$ (°)  | $\Psi$ (°) | No. $\bar{e}'s$ | $\Phi$ (°)   | $\Psi$ (°) | No. $\bar{e}'s$ |
|              | -179.98751  | -179.99632 | 53              | 178.55794  | 174.40492  | 54              |
| Ala $\alpha$ |   |            |                 |   |            |                 |
|              | $\Phi$ (°)  | $\Psi$ (°) | No. $\bar{e}'s$ | $\Phi$ (°)   | $\Psi$ (°) | No. $\bar{e}'s$ |
|              | -72.92976   | -177.33733 | 61              | -140.22290   | -173.02595 | 62              |
| Ala $\beta$  |  |            |                 |  |            |                 |
|              | $\Phi$ (°)  | $\Psi$ (°) | No. $\bar{e}'s$ | $\Phi$ (°)   | $\Psi$ (°) | No. $\bar{e}'s$ |
|              | -57.53067   | 147.29695  | 61              | -56.16149  | 144.58020  | 62              |

|              |   |  |                 |            |            |                 |
|--------------|---|--|-----------------|------------|------------|-----------------|
| <i>Val β</i> |    |    |                 |            |            |                 |
|              | $\Phi$ (°)  | $\Psi$ (°)   | No. $\bar{e}'s$ | $\Phi$ (°) | $\Psi$ (°) | No. $\bar{e}'s$ |
|              | -179.82304  | 166.88260  | 77              | -139.42339 | -166.33104 | 78              |
| <i>Val γ</i> |   |   |                 |            |            |                 |
|              | $\Phi$ (°)  | $\Psi$ (°)   | No. $\bar{e}'s$ | $\Phi$ (°) | $\Psi$ (°) | No. $\bar{e}'s$ |
|              | -62.91441   | 160.49173  | 77              | -62.81369  | 159.57869  | 78              |
| <i>Cys</i>   |  |  |                 |            |            |                 |
|              | $\Phi$ (°)  | $\Psi$ (°)   | No. $\bar{e}'s$ | $\Phi$ (°) | $\Psi$ (°) | No. $\bar{e}'s$ |
|              | -146.39601  | 172.75045  | 77              | -66.02845  | 177.91782  | 78              |

|     |            |            |                 |            |            |                 |
|-----|------------|------------|-----------------|------------|------------|-----------------|
| Tyr |            |            |                 |            |            |                 |
|     | $\Phi$ (°) | $\Psi$ (°) | No. $\bar{e}'s$ | $\Phi$ (°) | $\Psi$ (°) | No. $\bar{e}'s$ |
|     | -55.95489  | 141.16025  | 109             | -55.98458  | 140.45877  | 110             |
| Ser |            |            |                 |            |            |                 |
|     | $\Phi$ (°) | $\Psi$ (°) | No. $\bar{e}'s$ | $\Phi$ (°) | $\Psi$ (°) | No. $\bar{e}'s$ |
|     | -162.80437 | 167.86366  | 69              | -156.66505 | -169.94891 | 70              |
| Thr |            |            |                 |            |            |                 |
|     | $\Phi$ (°) | $\Psi$ (°) | No. $\bar{e}'s$ | $\Phi$ (°) | $\Psi$ (°) | No. $\bar{e}'s$ |
|     | -161.69124 | 166.72338  | 77              | -156.39183 | -179.37221 | 78              |
| Met |            |            |                 |            |            |                 |
|     | $\Phi$ (°) | $\Psi$ (°) | No. $\bar{e}'s$ | $\Phi$ (°) | $\Psi$ (°) | No. $\bar{e}'s$ |
|     | -153.74678 | 165.39534  | 93              | -137.43950 | 149.79753  | 94              |



La estructura molecular de los péptidos reparados en cada TE difiere de la de sus respectivos radicales, sin embargo, algunos cambios son muy evidentes. Cabe mencionar que ninguna reacción de TE implicó la ruptura de enlaces, por el contrario, hubo formación de enlaces al pasar de reactivos a productos en las especies de Gly, Ala  $\alpha$  y Asn, e igualmente, el dador del electrón pasó a convertirse en  $O_2$ , especie que contiene un doble enlace covalente. Uno de estos principales cambios es debido a los ángulos diedros de las moléculas que contienen los residuos: Gly, Ala  $\alpha$ , Val  $\beta$ , Cys, Ser y Thr. En el péptido de Gly la rotación de los ángulos diedros se debe a la libre rotación de estos al ser el aminoácido más simple, asimismo, la molécula dañada es plana pero el anión no, puesto que los hidrógenos del grupo funcional amino se encuentran fuera del plano. Tanto en el péptido Gly como en Ala  $\alpha$ , al agregar un electrón a la molécula la longitud del enlace  $C_\alpha - C_O$  disminuye pasando a tener carácter de doble enlace, al igual que ocurre en el péptido Asn en el enlace  $C_\beta - C_O$  y, además, en estas tres moléculas el grupo amino terminal cambia de geometría trigonal plana a pirámide trigonal. Este mismo cambio ocurre en la geometría de ciertos grupos de átomos de las cadenas laterales al ser reparados: en el  $C_\beta$  de los péptidos Ala  $\beta$  y Val  $\beta$ , en el  $C_\gamma$  del péptido Val  $\gamma$  y en el S del péptido Met. También, en el péptido Met, al tener un electrón menos la cadena lateral está desplazada hacia la cadena polipeptídica cerca del grupo formilo lo que disminuye la distancia entre el O del formilo y el S, por el contrario, al tener 94 electrones esta distancia aumenta. En el caso del péptido Tyr aumentó la distancia del enlace  $O - C_{Ar}$  y todos los enlaces en el anillo pasaron a tener carácter parcial

de doble enlace. En los péptidos Val  $\beta$  y Cys una notoria modificación es el ángulo diedro  $C_{\beta} - C_{\alpha} - N - C_{O}$  entre el radical y el anión que pasa de  $59.36473^{\circ}$  a  $93.24047^{\circ}$  y de  $80.90607^{\circ}$  a  $169.97867^{\circ}$ , respectivamente. En cuanto a Ser y Thr el cambio en los ángulos diedros es debido al desplazamiento de la cadena lateral hacia la cadena polipeptídica junto al grupo bloqueante amina aumentando la cercanía del O de la cadena lateral al H de la amida en los péptidos aniónicos de ambas especies. De igual manera, las rotaciones de los ángulos diedros en cada uno de los péptidos se encuentran en regiones permitidas a excepción de GlyC $_{\alpha}^{-}$ , quien se encuentran en una conformación hallada fuera de estas en el primer cuadrante (Figura 3-7). Asimismo, podemos identificar que la mayoría de las estructuras adoptadas se encuentran en la región de conformaciones  $\beta$  del segundo cuadrante ( $140.45877^{\circ} < \psi < 177.91782^{\circ}$  y  $-179.82304^{\circ} < \phi < -55.95489^{\circ}$ ), pero para los péptidos GlyC $_{\alpha}^{\bullet}$ , AsnC $_{\alpha}^{\bullet}$ , AsnC $_{\alpha}^{-}$ , ValC $_{\beta}^{-}$ , SerO $^{-}$ , y ThrO $^{-}$  las conformaciones  $\beta$  adoptadas corresponden al tercer cuadrante ( $-179.99632^{\circ} < \psi < -166.33104^{\circ}$  y  $-179.98751^{\circ} < \phi < -72.92976^{\circ}$ ). Por último, en todas las moléculas peptídicas ocurrió que la longitud del enlace  $C = O$ , unido al grupo amino bloqueante, aumentó. En general, todas las modificaciones en las moléculas al pasar de reactivos a productos se deben principalmente al acomodo de los átomos al agregar o quitar un electrón lo que obliga a la molécula a reorganizar su estructura molecular, por lo tanto, la geometría que adoptan las moléculas es la que minimiza su energía total.

### 7.3. Estudio termodinámico

Este estudio tiene como objeto determinar la viabilidad termodinámica de las reacciones propuestas, en otras palabras, precisa cuales reacciones están favorecidas termodinámicamente o son exergónicas. Para esto, de los cálculos computacionales individuales se obtuvieron  $G^{\circ}$  y las energías electrónicas ( $E$ , calculadas de la energía electrónica de productos en la geometría de reactivos) para los reactivos y productos de cada una de las reacciones propuestas (Tabla 7-3). Donde ambos valores disminuyen en magnitud en las moléculas con mayor tamaño, mayor número de átomos y, en consecuencia, mayor número de electrones lo que denota que  $G^{\circ}$  y  $E$  son propiedades extensivas, sin embargo, a pesar de esto, las

especies de Tyr no son las que tienen los valores más bajos. Igualmente, al aumentar un electrón en los péptidos las magnitudes de  $G^\circ$  y  $E$  se reducen, por consiguiente, al disminuir un electrón, como en el caso del  $O_2^{\bullet-}$ , ambas magnitudes aumentan.

Tabla 7-3.  $G^\circ$  y  $E$  para cada una de las especies involucradas en las reacciones

| <b>Reactivos</b>      | <b><math>G^\circ</math><br/>(<math>E_h</math>)</b> | <b><math>E</math><br/>(<math>E_h</math>)</b> | <b>Productos</b> | <b><math>G^\circ</math><br/>(<math>E_h</math>)</b> | <b><math>E</math><br/>(<math>E_h</math>)</b> |
|-----------------------|--|--|------------------|--|--|
| $O_2^{\bullet-}$      | -150.468689  | -150.451893                                  | $O_2$            | -150.325464  | -150.288161                                  |
| $GlyC_\alpha^\bullet$ | -377.196632  | -377.253725                                  | $GlyC_\alpha^-$  | -377.337718  | -377.379828                                  |
| $AlaC_\beta^\bullet$  | -416.451947  | -416.533689                                  | $AlaC_\beta^-$   | -416.573099  | -416.643022                                  |
| $AlaC_\alpha^\bullet$ | -416.476929  | -416.559552                                  | $AlaC_\alpha^-$  | -416.611645  | -416.676747                                  |
| $SerO^\bullet$        | -491.665105  | -491.750238                                  | $SerO^-$         | -491.852587  | -491.933457                                  |
| $ValC_\gamma^\bullet$ | -495.009943  | -495.144401                                  | $ValC_\gamma^-$  | -495.117855  | -495.197261                                  |
| $ValC_\beta^\bullet$  | -495.019836  | -495.152727                                  | $ValC_\beta^-$   | -495.117769  | -495.222720                                  |
| $ThrO^\bullet$        | -530.946230  | -531.058723                                  | $ThrO^-$         | -531.134064  | -531.242403                                  |
| $AsnC_\alpha^\bullet$ | -585.152292  | -585.257393                                  | $AsnC_\alpha^-$  | -585.307496  | -585.401616                                  |
| $TyrO^\bullet$        | -722.644857  | -722.805841                                  | $TyrO^-$         | -722.818168  | -722.974826                                  |
| $CysS^\bullet$        | -814.667531  | -814.747706                                  | $CysS^-$         | -814.835589  | -814.915841                                  |
| $MetS^{*\dagger}$     | -893.627609  | -893.777570                                  | $Met$            | -893.846130  | -893.962787                                  |

Ahora bien, en la reducción de radicales centrados en carbono se esperaba la formación de carbaniones. La oxidación de Gly y Asn da un radical terciario y secundario respectivamente, en cambio, en su reparación no solo se observa cómo la carga fue estabilizada por el grupo amida, sino que ésta se encuentra localizada en el N lo que ocasiona el cambio en la geometría de estas moléculas por ende no se da la formación de los carbaniones. Las especies Ala y Val tienen el comportamiento esperado respecto al tipo de radical producto de su oxidación ya que los radicales terciarios ( $AlaC_\alpha^\bullet$  y  $ValC_\beta^\bullet$ ) son más estables que los radicales primarios ( $AlaC_\beta^\bullet$  y  $ValC_\gamma^\bullet$ ), mientras que sus reducciones originan los carbaniones primarios ( $AlaC_\beta^-$  y  $ValC_\beta^-$ ) y el carbanión terciario ( $ValC_\gamma^-$ ), además, la estabilidad en los carbaniones de Val es la que se esperaba puesto que el carbanión terciario es menos estable que el primario, pero en  $AlaC_\alpha^-$  ocurre lo mismo que en la reparación de Gly y Asn por lo que tampoco se muestra la formación del carbanión.

Por otro lado, la reducción de radicales centrados en heteroátomos (O y S) produce sus respectivos aniones, con excepción del catión radical que produce la especie neutra. En radicales centrados en oxígeno los sustituyentes son relevantes en su estabilidad puesto que el radical TyrO•, un radical arílico, es más estable en comparación con los radicales SerO• y ThrO•, radicales alquílicos, debido a la deslocalización del electrón no apareado en el sistema  $\pi$  adyacente; de la misma manera, los productos de la reparación de estos fragmentos tienen la misma tendencia en estabilidad. Mientras que, tanto los radicales centrados en azufre como sus aniones son más estables que todas las anteriores especies mencionadas y la Met reparada al ser una especie neutra es la más estable.

Tabla 7-4.  $\Delta G^\circ_{rxn}$ ,  $\Delta E_{vertical}$ ,  $\lambda$  y  $\Delta^\ddagger G^\circ$  para la reparación de los modelos de tripéptidos

| Reparación de:         | $\Delta G^\circ_{rxn}$<br>(Kcal/mol) | $\Delta E_{vertical}$<br>(Kcal/mol) | $\lambda$ (Kcal/mol) | $\Delta^\ddagger G^\circ$<br>(Kcal/mol) |
|------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------|----------------------|---|
| GlyC $^\bullet_\alpha$ | 1.342244                             | 23.612501                           | 22.270257            | 6.258911                                |
| AlaC $^\bullet_\beta$  | 13.851028                            | 34.135750                           | 20.284722            | 14.361171                               |
| AlaC $^\bullet_\alpha$ | 5.339483                             | 29.202245                           | 23.862763            | 8.934120                                |
| SerO•                  | -27.771710                           | -12.228258                          | 15.543452            | 2.405037                                |
| ValC $^\bullet_\gamma$ | 22.159261                            | 69.573411                           | 47.414150            | 25.522231                               |
| ValC $^\bullet_\beta$  | 28.421183                            | 58.822288                           | 30.401105            | 28.453419                               |
| ThrO•                  | -27.992594                           | -12.517490                          | 15.475103            | 2.531285                                |
| AsnC $^\bullet_\alpha$ | -7.516942                            | 12.242252                           | 19.759194            | 1.896240                                |
| TyrO•                  | -18.879266                           | -3.296547                           | 15.582719            | 0.174347                                |
| CysS•                  | -15.582956                           | -2.762865                           | 12.820091            | 0.148857                                |
| MetS $^{*\dagger}$     | -47.248993                           | -13.482016                          | 33.766977            | 1.345729                                |

A partir de los valores de  $G^\circ$  de la Tabla 7-3 se calcularon las energías libres de reacción  $\Delta G^\circ_{rxn}$  haciendo uso de la Ley de Hess representada en la ecuación (7.3):

$$\Delta G^\circ_{rxn} = \sum \Delta G^\circ_{productos} - \sum \Delta G^\circ_{reactivos} \quad (7.3)$$

Los valores de  $\Delta G^\circ_{rxn}$  para los péptidos con cadenas laterales de Gly, Ala y Val son positivos ( $\Delta G^\circ_{rxn} > 0 \text{ kcal/mol}$ ), en tanto, las cadenas laterales de Cys, Tyr, Ser, Thr, Asn y Met son negativos ( $\Delta G^\circ_{rxn} < 0 \text{ kcal/mol}$ ) y se encuentran

sombreados en color azul (Tabla 7-4). De acuerdo con esos datos, en las primeras reacciones mencionadas la reacción directa está desfavorecida y la inversa está favorecida, siendo así reacciones endergónicas y, por tanto, no espontáneas. Por el contrario, las reacciones con  $\Delta G^{\circ}_{rxn}$  negativo son exergónicas y espontáneas, en consecuencia, los productos son más estables que los reactivos de los que parten, lo que indica que las reacciones continuarán en la dirección propuesta.

De igual manera, se graficaron los  $\Delta G^{\circ}_{rxn}$  y los  $\Delta^{\ddagger}G^{\circ}$  con la intención de visualizar el comportamiento termodinámico de las reacciones. Para la representación de todas las curvas de energía potencial se toma como 0 la energía libre de los reactivos,  $\Delta^{\ddagger}G^{\circ}$  como la barrera energética y  $\Delta G^{\circ}_{rxn}$  como la energía libre de los productos puesto que es obtenida de la diferencia de energías entre productos y reactivos. En dicha gráfica, se puede ver de manera más clara como todas las reacciones que se encuentran por encima del 0 son endergónicas y no espontáneas, siendo aquellas que se encuentran por debajo del 0 exergónicas y espontáneas. En el caso de los péptidos alquílicos, entre menor es la cadena lateral y la posición del daño se encuentra más próxima a la cadena principal del péptido  $\Delta G^{\circ}_{rxn}$  es menor, en cambio para los demás péptidos no hay una relación clara. En el caso de Ser y Thr ambos valores de energía son muy parecidos debido a la similitud en las geometrías de las moléculas y la posición en la que se forma el radical, sin embargo, los valores de energía para la reparación de Thr son más bajos al ser mayor el tamaño de la molécula. La estabilidad de los productos de las reacciones sigue el orden: Val $\beta$  < Val $\gamma$  < Ala $\beta$  < Ala $\alpha$  < Gly < Asn < Cys < Tyr < Ser < Thr < Met, siendo el producto de la reparación de Met el más estable y el producto de la reparación de Val  $\beta$  el menos estable. La espontaneidad y exergonicidad en las reacciones es: Asn < Cys < Tyr < Ser < Thr < Met; mientras, la no espontaneidad y endergonicidad es: Gly < Ala $\alpha$  < Ala $\beta$  < Val $\gamma$  < Val $\beta$ . Considerando que estas últimas reacciones mencionadas son espontáneas en la dirección inversa, dado que para que una reacción se lleve a cabo debe estar favorecida tanto termodinámicamente como cinéticamente, se espera que si la primera no es favorable la segunda tampoco; sin embargo, en estos casos las

reacciones inversas no tienen sentido ya que los carbaniones no son estables en agua y se protonarían antes de poder reaccionar con el  $O_2$ .

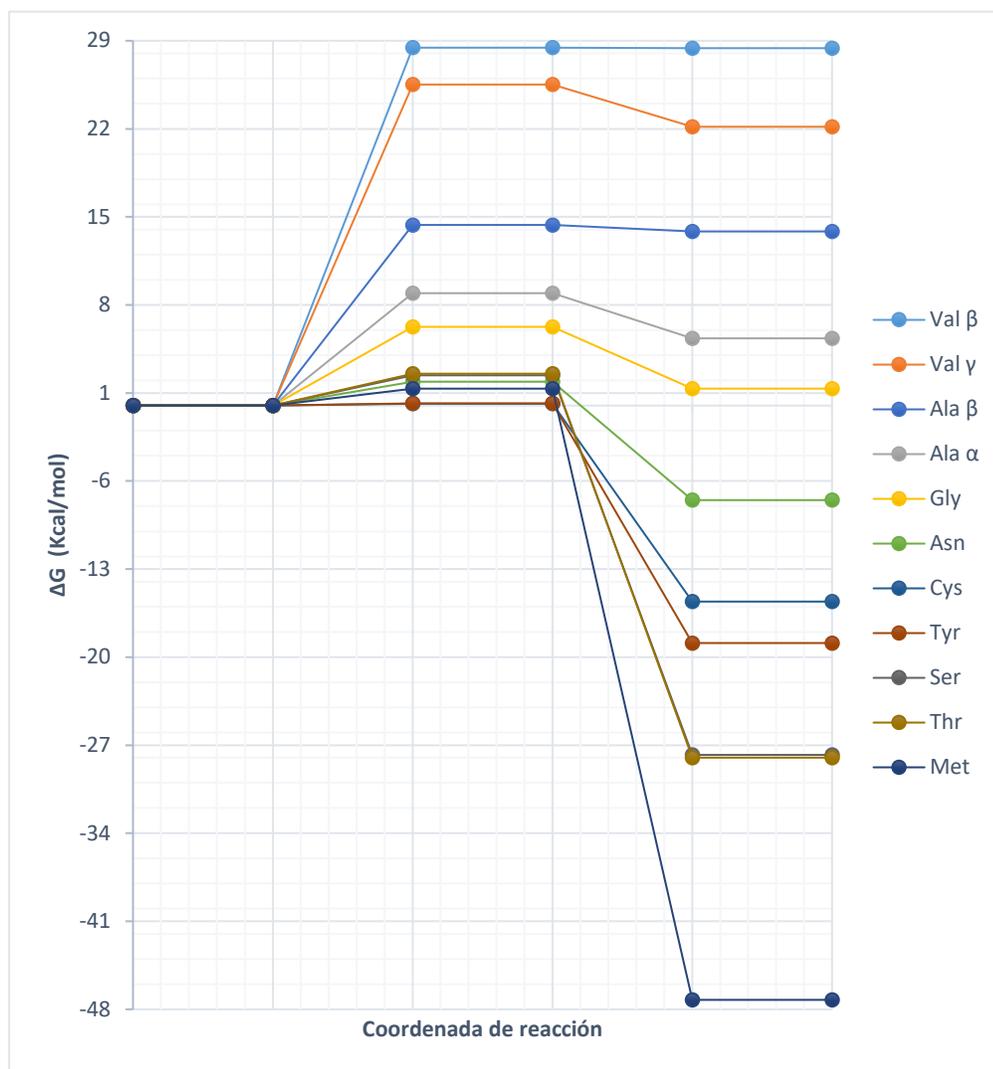


Figura 7-3. Curvas de energía potencial de las reacciones propuestas

#### 7.4. Estudio cinético

Para este estudio se utilizaron las ecuaciones (5.60) y (5.61), y a partir de las  $E$  de la Tabla 7-3, se obtuvieron las  $\Delta^\ddagger G^\circ$  de las reacciones. De acuerdo con estas ecuaciones, en la Tabla 7-4 se encuentran todos los valores necesarios para obtener la energía de activación por medio de la Teoría de Marcus. Donde  $\Delta E_{vertical}$  se obtuvo, nuevamente, conforme a la ley de Hess de la ecuación (7.4):

$$\Delta E_{vertical} = \sum \Delta E_{Productos} - \sum \Delta E_{Reactivos} \quad (7.4)$$

Teniendo en cuenta que, en los péptidos alquílicos  $\Delta E_{vertical}$  y  $\Delta G^{\circ}_{rxn}$  son valores positivos y  $\Delta G^{\circ}_{rxn} > \Delta E_{vertical}$ , entonces,  $\lambda$  va incrementando también su valor. Por consiguiente, se puede afirmar que, para estos péptidos  $\Delta^{\ddagger}G^{\circ}$  aumenta mientras mayor sea el número de carbonos en la cadena lateral, asimismo,  $\Delta G^{\circ}_{rxn}$  y  $\Delta E_{vertical}$  crecen en magnitud al aumentar el número de carbonos dado que tanto  $\Delta G^{\circ}_{productos}$  como  $\Delta E_{Productos}$ , en cada una de estas reacciones, son cantidades mayores a las respectivas sumas de energías de sus reactivos. En cambio, para el caso de los demás péptidos  $\Delta E_{vertical}$  y  $\Delta G^{\circ}_{rxn}$  son valores negativos, excepto por  $\Delta E_{vertical}$  en Asn, en tanto que,  $\Delta G^{\circ}_{rxn} < \Delta E_{vertical}$  y las magnitudes de  $\lambda$  son más pequeñas que en los péptidos anteriores, salvo por Met. Por otra parte, no hay un comportamiento claro en el cambio de las barreras energéticas debidas a la estructura, puesto que, las cadenas laterales son muy diferentes en estos péptidos al contener heteroátomos.

La barrera energética de las reacciones lleva el siguiente orden: Cys < Tyr < Met < Asn < Ser < Thr < Gly < Ala $\alpha$  < Ala $\beta$  < Val $\gamma$  < Val $\beta$ . Donde, las energías de activación para las reacciones exergónicas oscilan entre 0.149 Kcal/mol y 2.531 kcal/mol, en cambio, para las reacciones endergónicas oscilan entre 6.259 Kcal/mol y 28.453 kcal/mol. En concordancia con la teoría de Marcus, la energía mínima necesaria para romper la barrera que divide a los reactivos de los productos es pequeña para la reparación de péptidos con heteroátomos en su cadena lateral, y entre más pequeña sea  $\Delta^{\ddagger}G^{\circ}$  la reacción sucederá a mayor velocidad siempre que la suma de  $G^{\circ}$  de los productos sea más baja que la de los reactivos para que  $\Delta G^{\circ}_{rxn}$  tenga valores negativos y, entre menor sea este valor, más rápida será la reacción. Por el contrario, las barreras energéticas altas para la reparación de péptidos alquílicos ocasionan que la velocidad de reacción sea mucho menor que en el caso anterior ya que  $\Delta G^{\circ}_{rxn}$  tiene valores positivos al ser más estables los productos que los reactivos y, entre mayor sea esta diferencia de  $G^{\circ}$ , más lenta será la reacción. Asimismo, en las reacciones exergónicas se cumple  $|\Delta G^{\circ}_{rxn}| > \lambda$  (a excepción de la reacción de Asn la cual, junto con las reacciones

endergónicas, cumple  $|\Delta G^{\circ}_{rxn}| < \lambda$ ) de modo que en estas TE se esperaría la inversión en la velocidad a medida que la exergonicidad ( $-\Delta G^{\circ}_{rxn}$ ) de la reacción excede la energía de reorganización, aunque en reacciones de TE intermoleculares la difusión de los reactivos es mucho más importante para que la reacción se lleve a cabo, lo que convierte a la velocidad de difusión en el paso determinante para la reacción; enmascarando así el comportamiento esperado de inversión de Marcus puesto que la velocidad de reacción se satura a  $k_D$  en la región de mayor exergonicidad.

Tabla 7-5. Factor exponencial y  $k^{TET}$  para las reacciones propuestas

| <b>Reparación</b>                | <b>Factor</b>      | <b><math>k^{TET}</math></b> |
|----------------------------------|--------------------|-----------------------------|
| <b>de:</b>                       | <b>exponencial</b> | <b>(L/mol*s)</b>            |
| <i>GlyC<math>\alpha</math></i>   | 2.58E-05           | 1.60E+08                    |
| <i>AlaC<math>\beta</math></i>    | 2.97E-11           | 1.84E+02                    |
| <i>AlaC<math>\alpha</math></i>   | 2.82E-07           | 1.75E+06                    |
| <i>SerO<math>\bullet</math></i>  | 1.73E-02           | 1.07E+11                    |
| <i>ValC<math>\gamma</math></i>   | 1.95E-19           | 1.21E-06                    |
| <i>ValC<math>\beta</math></i>    | 1.38E-21           | 8.60E-09                    |
| <i>ThrO<math>\bullet</math></i>  | 1.39E-02           | 8.66E+10                    |
| <i>AsnC<math>\alpha</math></i>   | 4.07E-02           | 2.53E+11                    |
| <i>TyrO<math>\bullet</math></i>  | 7.45E-01           | 4.63E+12                    |
| <i>CysS<math>\bullet</math></i>  | 7.78E-01           | 4.83E+12                    |
| <i>MetS<math>\bullet+</math></i> | 1.03E-01           | 6.41E+11                    |

Después, a partir de los  $\Delta^{\ddagger}G^{\circ}$  se calcularon las constantes de velocidad de cada reacción usando la ecuación (5.59), donde  $\kappa = \sigma = 1$  puesto que son reacciones de TE. En la Tabla 7-5 se encuentran los datos necesarios para obtener la cinética de las reacciones. La reparación de Cys fue la reacción más rápida y la reacción más lenta fue la reparación de Val  $\beta$ . El orden de la reparación de los péptidos de acuerdo con su velocidad de reacción queda como: Val $\beta$  < Val $\gamma$  < Ala $\beta$  < Ala $\alpha$  < Gly < Thr < Ser < Asn < Met < Tyr < Cys. De igual manera, acorde con el estudio termodinámico las reacciones endergónicas fueron las reacciones con las constantes de velocidad más bajas, por lo que, se comprueba que son reacciones cinéticamente menos favorecidas que las exergónicas. Además, para el caso de las reacciones con  $k^{TET}$  cercanas al límite de difusión (esto es el caso de

todas las reacciones exergónicas sombreadas en color azul) se utilizó la Teoría de Collins-Kimball con el fin de corregirlas. Para obtener este cálculo, se obtuvieron computacionalmente los radios de los radicales y, a partir de estos, se calcularon las  $k_D$  de dichas reacciones (Tabla 7-6).

Tabla 7-6. Radio,  $D$ ,  $D_{AB}$ ,  $R$  y  $k_D$  para las reacciones exergónicas

| Reactivo                   | Radio (Å) | $D$ ( $m^2/s$ ) | $D_{AB}$ ( $m^2/s$ ) | $R$ (m)  | $k_D$ (L/mol*s) |
|----------------------------|-----------|-----------------|----------------------|----------|-----------------|
| $O_2^{\bullet-}$           | 2.77      | 8.85E-10        | -                    | -        | -               |
| AsnC $_{\alpha}^{\bullet}$ | 4.11      | 5.96E-10        | 1.48E-09             | 6.88E-10 | 7.63E+09        |
| CysS $^{\bullet}$          | 4.22      | 5.81E-10        | 1.47E-09             | 6.99E-10 | 7.75E+09        |
| TyrO $^{\bullet}$          | 4.83      | 5.08E-10        | 1.39E-09             | 7.60E-10 | 8.43E+09        |
| SerO $^{\bullet}$          | 4.19      | 5.85E-10        | 1.47E-09             | 6.96E-10 | 7.72E+09        |
| ThrO $^{\bullet}$          | 4.45      | 5.51E-10        | 1.44E-09             | 7.22E-10 | 8.01E+09        |
| MetS $^{\bullet+}$         | 4.36      | 5.62E-10        | 1.45E-09             | 7.13E-10 | 7.91E+09        |

Aun cuando se esperaría que en las moléculas con mayor cantidad de átomos y mayor cantidad de electrones tuviesen un radio mayor, esto no sucede así, pues la forma de las moléculas difiere de una a otra y ocasiona que esto no se cumpla. La tendencia en la magnitud de los radios de las moléculas queda como:  $O_2^{\bullet-} < \text{Asn} < \text{Ser} < \text{Cys} < \text{Met} < \text{Thr} < \text{Tyr}$ . Por tanto, los coeficientes de difusión ( $D$ ) siguen el orden contrario y esto es congruente con lo que se espera ya que las moléculas, al tener un mayor tamaño, difunden más lentamente en el agua si no se toma en cuenta su forma. De modo que, las constantes limitadas por difusión incrementan a medida que los reactivos tienen radios más grandes puesto que al tener un mayor tamaño los reactivos se encuentran más rápidamente para iniciar la reacción de TE.

Luego, con ambas constantes ( $k^{TET}$  y  $k_D$ ) se obtuvo  $k_{app}$  para las reacciones de reparación de Asn, Cys, Tyr, Ser y Met. Por último, las constantes de velocidad se corrigieron por la abundancia del superóxido a pH fisiológico, por lo que,  $k_{app} > k^{pH=7.4}$  (Tabla 7-7). El orden de la velocidad de reparación de las reacciones planteadas, finalmente, queda como:  $\text{Ser} < \text{Thr} < \text{Asn} < \text{Cys} < \text{Met} < \text{Tyr}$ . Siendo así, la reparación del péptido que contiene al aminoácido Tyr la reacción que sucede más rápido, mientras que el péptido que contiene al aminoácido Ser es la reacción

más lenta entre las reacciones exergónicas. A pesar de que se esperaría que la reacción con  $\Delta^\ddagger G^\circ$  más pequeña fuera la más rápida en ocurrir, en este caso la reparación de Cys, la velocidad de las reparaciones no ocurre de acuerdo a la disminución en la barrera de activación debido a que es principalmente la difusión de los reactivos la que controla la velocidad de las reacciones. Estas velocidades indican que las reacciones propuestas del anión radical superóxido con proteínas inicialmente dañadas, que tienen cadenas laterales de Asn, Cys, Tyr, Ser y Met, pueden ser consideradas como procesos de reparación, advirtiendo que esta ERO puede tener una función importante en la reparación de los sitios de RL en las proteínas.

*Tabla 7-7. Constantes de velocidad corregidas para las reacciones termodinámicamente favorecidas*

| <b>Reparación<br/>de:</b>   | <b><math>k_{app}</math><br/>(L/mol*s)</b> | <b><math>k^{pH=7.4}</math><br/>(L/mol*s)</b> |
|-----------------------------|---|--|
| <i>Asn</i> $\alpha^\bullet$ | 7.41E+09                                  | 7.39E+09                                     |
| <i>Cys</i> $S^\bullet$      | 7.74E+09                                  | 7.72E+09                                     |
| <i>Tyr</i> $O^\bullet$      | 8.42E+09                                  | 8.39E+09                                     |
| <i>Ser</i> $O^\bullet$      | 7.20E+09                                  | 7.18E+09                                     |
| <i>Thr</i> $O^\bullet$      | 7.33E+09                                  | 7.31E+09                                     |
| <i>Met</i> $S^{\bullet+}$   | 7.81E+09                                  | 7.79E+09                                     |

## 8. Conclusiones

---

Para que se llevaran a cabo las TE fueron necesarios cambios en las longitudes de enlace y en los ángulos diedros de los fragmentos de proteínas, donde la mayoría de las conformaciones adquiridas no se modificaron significativamente al reaccionar con  $O_2^{\bullet-}$ , además, tanto reactivos como productos se encuentran dentro de una conformación  $\beta$  de acuerdo con el gráfico de Ramachandran.

Solo seis de las reacciones de reparación están favorecidas termodinámicamente y son los fragmentos de proteínas con los aminoácidos Cys, Tyr, Ser, Thr, Asn y Met. Mientras que, las reacciones de los fragmentos proteicos con los aminoácidos Gly, Ala y Val están favorecidas bajo las condiciones planteadas en sentido inverso. La reparación de los modelos de tripéptidos se ven favorecidas cuando  $\Delta G^\circ_{rxn}$  es negativa, es decir, las reacciones son exergónicas con magnitudes  $G^\circ$  pequeñas y  $\Delta^\ddagger G^\circ$  son positivas con valores pequeños.

La reducción de radicales centrados en carbono por TE del  $O_2^{\bullet-}$  no ocurre más que en el caso de la Asn. En estas reacciones los carbaniones se forman solo sí el electrón no puede ser estabilizado por algún sustituyente.

La reducción de radicales centrados en heteroátomos por TE del  $O_2^{\bullet-}$  se da y con velocidades de reacción controladas por difusión.

La estabilidad de los radicales centrados en oxígeno depende más de los sustituyentes que en el caso de los radicales centrados en carbono o azufre.

Los radicales centrados en el oxígeno y azufre son especies altamente reactivas con  $O_2^{\bullet-}$  en comparación con los radicales centrados en el carbono.

Todo lo anterior indica que en contraste con lo que se cree sobre que la especie  $O_2^{\bullet-}$  es un oxidante, en este estudio se demuestra que se comporta como antioxidante frente a aminoácidos dañados en heteroátomos y carbono para el fragmento de proteína que contiene Asn.

Conforme a los cálculos obtenidos sabemos que la hipótesis parece ser correcta en el caso de los péptidos que tienen cadenas laterales de aminoácidos

que contienen azufre, oxígeno o nitrógeno dentro de su estructura. En el caso de péptidos con aminoácidos que no contienen ninguna de las especies mencionadas no se encontró que la reparación por  $O_2^{\bullet-}$  sea viable.

En general, este estudio permite saber que el anión radical superóxido puede reaccionar, mediante transferencia electrónica, para reparar el daño causado por estrés oxidativo en los aminoácidos Cys, Tyr, Ser, Thr, Asn y Met con constantes de velocidad controladas por difusión.

## 9. Bibliografía

---

- (1) Galano, A. Free Radicals Induced Oxidative Stress at a Molecular Level: The Current Status, Challenges and Perspectives of Computational Chemistry Based Protocols. *J. Mex. Chem. Soc.* **2017**, *59* (4), 231–262.
- (2) THOMPSON, J. E.; LEGGE, R. L.; BARBER, R. F. THE ROLE OF FREE RADICALS IN SENESCENCE AND WOUNDING. *New Phytol.* **1987**, *105* (3), 317–344.
- (3) Suzuki, N.; Mittler, R. Reactive Oxygen Species-Dependent Wound Responses in Animals and Plants. *Free Radic. Biol. Med.* **2012**, *53* (12), 2269–2276.
- (4) González Torres, M. C.; Betancourt Rule, M.; Ortiz Muñiz, R. Daño Oxidativo y Antioxidantes. *Bioquímica* **2000**, *25* (1), 3–9.
- (5) Martínez-Cayuela, M. Toxicidad de Xenobióticos Mediada Por Radicales Libres de Oxígeno Xenobiotic Toxicity Mediated by Oxygen Free Radicals. *Ars Pharm.* **1998**, *39* (1), 1–13.
- (6) Pedraza Chaverri, J.; Cárdenas Rodríguez, N. Especies Reactivas de Oxígeno y Sistemas Antioxidantes. Aspectos Básicos. *Educ. Química* **2018**, *17* (2), 164.
- (7) Korc, I.; Bidegain, M.; Martell, M. Radicales Libres Bioquímica y Sistemas Antioxidantes Implicancia En La Patología Neonatal. *Rev. Médica del Uruguay* **1995**, *11* (2), 121–135.
- (8) Avello, M.; Suwalsky, M. Radicales Libres, Antioxidantes Naturales y Mecanismos de Protección. *Atenea (Concepción)* **2006**, No. 494.

- (9) Maldonado SO, Jiménez VEN, Guapillo VMRB, Ceballos RGM, M. B. Radicales Libres y Su Papel En Las Enfermedades Crónico-Degenerativas. *Rev. Médica la Univ. Veracruzana* **2010**, 10 (2), 32–39.
- (10) Hernández-Rodríguez S, Gutiérrez-Salinas J, García- Ortíz L, M.-T. P. y col. Estrés Oxidativo y Nitrosativo Como Mecanismo de Daño Al Hepatocito Producido Por El Metabolismo Del Etanol. *Med. Interna México* **2014**, 30 (3), 295–308.
- (11) Hansberg Torres, W. Biología de Las Especies de Oxígeno Reactivas. *Mensaje Bioquim.* **2002**, XXVI, 19–54.
- (12) Sies, H. Biochemistry of Oxidative Stress. *Angew. Chemie Int. Ed. English* **1986**, 25 (12), 1058–1071.
- (13) Đukić, M.; Ninković, M.; Jovanović, M. Oxidative Stress - Clinical Diagnostic Significance. *J. Med. Biochem.* **2008**, 27 (4), 409–425.
- (14) Galano, A.; Tan, D. X.; Reiter, R. J. Melatonin as a Natural Ally against Oxidative Stress: A Physicochemical Examination. *J. Pineal Res.* **2011**, 51 (1), 1–16.
- (15) Elejalde Guerra, J. I. Estrés Oxidativo, Enfermedades y Tratamientos Antioxidantes. *An. Med. Interna* **2001**, 18 (6), 326–335.
- (16) Venereo Gutiérrez, J. R. Daño Oxidativo, Radicales Libres y Antioxidantes. *Rev. Cuba. Med. Mil.* **2002**, 31 (2), 126–133.
- (17) Valko, M.; Izakovic, M.; Mazur, M.; Rhodes, C. J.; Telser, J. Role of Oxygen Radicals in DNA Damage and Cancer Incidence. *Mol. Cell. Biochem.* **2004**, 266 (1/2), 37–56.
- (18) Halliwell, B.; Gutteridge, J. M. Oxygen Toxicity, Oxygen Radicals, Transition Metals and Disease. *Biochem. J.* **1984**, 219 (1), 1–14.

- 
- (19) Halliwell, B. Oxidative Stress and Neurodegeneration: Where Are We Now? *J. Neurochem.* **2006**, *97* (6), 1634–1658.
- (20) Phaniendra, A.; Jestadi, D. B.; Periyasamy, L. Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Indian J. Clin. Biochem.* **2015**, *30* (1), 11–26.
- (21) Gutteridge, J. M. C. Biological Origin of Free Radicals, and Mechanisms of Antioxidant Protection. *Chem. Biol. Interact.* **1994**, *91* (2–3), 133–140.
- (22) SIES, H. Oxidative Stress: Introductory Remarks. In *Oxidative Stress*; Elsevier, 1985; pp 1–8.
- (23) Liochev, S. I.; Fridovich, I. The Effects of Superoxide Dismutase on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> formation. *Free Radic. Biol. Med.* **2007**, *42* (10), 1465–1469.
- (24) McCord, J. M.; Fridovich, I. Superoxide Dismutase. An Enzymic Function for Erythrocyte (Hemocuprein). *J. Biol. Chem.* **1969**, *244* (22), 6049–6055.
- (25) Radi, R. Nitric Oxide, Oxidants, and Protein Tyrosine Nitration. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2004**, *101* (12), 4003–4008.
- (26) Galano, A.; Castañeda-Arriaga, R.; Pérez-González, A.; Tan, D.-X.; Reiter, R. Phenolic Melatonin-Related Compounds: Their Role as Chemical Protectors against Oxidative Stress. *Molecules* **2016**, *21* (11), 1442.
- (27) Pisoschi, A. M.; Pop, A. The Role of Antioxidants in the Chemistry of Oxidative Stress: A Review. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *97*, 55–74.
- (28) Storz, P. Reactive Oxygen Species-Mediated Mitochondria-to-Nucleus Signaling: A Key to Aging and Radical-Caused Diseases. *Sci. Signal.* **2006**, *2006* (332), re3–re3.
- (29) Andrade Júnior, D. R. de; Souza, R. B. de; Santos, S. A. dos; Andrade, D. R. de. Os Radicais Livres de Oxigênio e as Doenças Pulmonares. *J. Bras.*
-

- 
- Pneumol.* **2005**, 31 (1), 60–68.
- (30) Imlay, J. A. Pathways of Oxidative Damage. *Annu. Rev. Microbiol.* **2003**, 57 (1), 395–418.
- (31) Devasagayam, T. P. A.; Tilak, J. C.; Bloor, K. K.; Sane, K. S.; Ghaskadbi, S. S.; Lele, R. D. Free Radicals and Antioxidants in Human Health: Current Status and Future Prospects. *Journal of Association of Physicians of India.* 2004, pp 794–804.
- (32) Thanan, R.; Oikawa, S.; Hiraku, Y.; Ohnishi, S.; Ma, N.; Pinlaor, S.; Yongvanit, P.; Kawanishi, S.; Murata, M. Oxidative Stress and Its Significant Roles in Neurodegenerative Diseases and Cancer. *Int. J. Mol. Sci.* **2014**, 16 (1), 193–217.
- (33) Schöneich, C.; Pogocki, D.; Hug, G. L.; Bobrowski, K. Free Radical Reactions of Methionine in Peptides: Mechanisms Relevant to  $\beta$ -Amyloid Oxidation and Alzheimer's Disease. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125 (45), 13700–13713.
- (34) Stadtman, E. R.; Berlett, B. S. Reactive Oxygen-Mediated Protein Oxidation in Aging and Disease. *Drug Metab. Rev.* **1998**, 30 (2), 225–243.
- (35) Stadtman, E. R. Oxidation of Free Amino Acids and Amino Acid Residues in Proteins by Radiolysis and by Metal-Catalyzed Reactions. *Annu. Rev. Biochem.* **1993**, 62 (1), 797–821.
- (36) Nadal, R. C.; Abdelraheim, S. R.; Brazier, M. W.; Rigby, S. E. J.; Brown, D. R.; Viles, J. H. Prion Protein Does Not Redox-Silence  $\text{Cu}^{2+}$ , but Is a Sacrificial Quencher of Hydroxyl Radicals. *Free Radic. Biol. Med.* **2007**, 42 (1), 79–89.
- (37) Galletti, P.; De Bonis, M. L.; Sorrentino, A.; Raimo, M.; D'Angelo, S.; Scala, I.; Andria, G.; D'Aniello, A.; Ingrosso, D.; Zappia, V. Accumulation of Altered Aspartyl Residues in Erythrocyte Proteins from Patients with Down's Syndrome. *FEBS J.* **2007**, 274 (20), 5263–5277.
-

- (38) HAWKINS, C. L.; PATTISON, D. I.; DAVIES, M. J. Reaction of Protein Chloramines with DNA and Nucleosides: Evidence for the Formation of Radicals, Protein–DNA Cross-Links and DNA Fragmentation. *Biochem. J.* **2002**, 365 (3), 605–615.
- (39) Lushchak, V. I. Free Radicals, Reactive Oxygen Species, Oxidative Stress and Its Classification. *Chem. Biol. Interact.* **2014**, 224 (October), 164–175.
- (40) Čolak, E. New Markers of Oxidative Damage to Macromolecules. *J. Med. Biochem.* **2008**, 27 (1), 1–16.
- (41) Rahal, A.; Kumar, A.; Singh, V.; Yadav, B.; Tiwari, R.; Chakraborty, S.; Dhama, K. Oxidative Stress, Prooxidants, and Antioxidants: The Interplay. *Biomed Res. Int.* **2014**, 2014, 1–19.
- (42) MatÉs, J. M.; Pérez-Gómez, C.; De Castro, I. N. Antioxidant Enzymes and Human Diseases. *Clin. Biochem.* **1999**, 32 (8), 595–603.
- (43) Vargas, Franklin; Rivas, Carlos; Nursamaa, Abdoel; Zoltan, T. Reacciones de Radicales Libres Con Relevancia Biológica En La Teoría Del Envejecimiento. *Av. en Química* **2007**, 2 (2), 3–15.
- (44) Ipson, B. R.; Fisher, A. L. Roles of the Tyrosine Isomers Meta- Tyrosine and Ortho- Tyrosine in Oxidative Stress. *Ageing Res. Rev.* **2016**, 27, 93–107.
- (45) Velázquez Paniagua, Mireya y Prieto Gómez Bertha, C. P. R. El Envejecimiento y Los Radicales Libres. *Ciencias 75* **2004**, No. julio-septiembre, 36–43.
- (46) Davies, M. J. The Oxidative Environment and Protein Damage. *Biochim. Biophys. Acta - Proteins Proteomics* **2005**, 1703 (2), 93–109.
- (47) Davies, M. J. Protein Oxidation and Peroxidation. *Biochem. J.* **2016**, 473 (7), 805–825.

- 
- (48) Davies, M. J. Oxidative Damage to Proteins. In *Encyclopedia of Radicals in Chemistry, Biology and Materials*; John Wiley & Sons, Ltd: Chichester, UK, 2012.
- (49) Wolff, S. P.; Garner, A.; Dean, R. T. Free Radicals, Lipids and Protein Degradation. *Trends Biochem. Sci.* **1986**, *11* (1), 27–31.
- (50) Pattison, D. I.; Davies, M. J. Absolute Rate Constants for the Reaction of Hypochlorous Acid with Protein Side Chains and Peptide Bonds. *Chem. Res. Toxicol.* **2001**, *14* (10), 1453–1464.
- (51) Davies, M. J. Singlet Oxygen-Mediated Damage to Proteins and Its Consequences. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2003**, *305* (3), 761–770.
- (52) Alvarez, B.; Radi, R. Peroxynitrite Reactivity with Amino Acids and Proteins. *Amino Acids* **2003**, *25* (3–4), 295–311.
- (53) Davies, M. J.; Fu, S.; Wang, H.; Dean, R. T. Stable Markers of Oxidant Damage to Proteins and Their Application in the Study of Human Disease. *Free Radic. Biol. Med.* **1999**, *27* (11–12), 1151–1163.
- (54) Costa, V.; Quintanilha, A.; Moradas-Ferreira, P. Protein Oxidation, Repair Mechanisms and Proteolysis in *Saccharomyces Cerevisiae*. *IUBMB Life* **2007**, *59* (4), 293–298.
- (55) Stadtman, E. R.; Levine, R. L. Free Radical-Mediated Oxidation of Free Amino Acids and Amino Acid Residues in Proteins. *Amino Acids* **2003**, *25* (3–4), 207–218.
- (56) Pattison, D. I.; Rahmanto, A. S.; Davies, M. J. Photo-Oxidation of Proteins. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2012**, *11* (1), 38–53.
- (57) Maleknia, S. D.; Downard, K. M. Radical Approaches to Probe Protein Structure, Folding, and Interactions by Mass Spectrometry. *Mass Spectrom. Rev.* **2001**, *20* (6), 388–401.
-

- 
- (58) DEAN, R. T.; FU, S.; STOCKER, R.; DAVIES, M. J. Biochemistry and Pathology of Radical-Mediated Protein Oxidation. *Biochem. J.* **1997**, 324 (1), 1–18.
- (59) Hawkins, C. L.; Davies, M. J. Generation and Propagation of Radical Reactions on Proteins. *Biochim. Biophys. Acta - Bioenerg.* **2001**, 1504 (2–3), 196–219.
- (60) Halliwell, B.; Whiteman, M. Measuring Reactive Species and Oxidative Damage in Vivo and in Cell Culture: How Should You Do It and What Do the Results Mean? *Br. J. Pharmacol.* **2004**, 142 (2), 231–255.
- (61) Galano, A.; Raúl Alvarez-Idaboy, J. Computational Strategies for Predicting Free Radical Scavengers' Protection against Oxidative Stress: Where Are We and What Might Follow? *Int. J. Quantum Chem.* **2019**, 119 (2), e25665.
- (62) Butnariu, M. Antioxidant (Antiradical) Compounds. *J. Bioequiv. Availab.* **2012**, 4 (6), 4–6.
- (63) Mishra, R.; Bisht, S. S. Antioxidants and Their Characterization. *J. Pharm. Res.* **2011**, 4(8) (November), 2744–2746.
- (64) Nelson, D. L.; Cox, M. M. *Lehninger Principles of Biochemistry*; WH Freeman, 2017.
- (65) Van Holde, K. E.; Johnson, W. C.; Johnson, C.; Ho, P. S. *Principles of Physical Biochemistry*; Principles of Physical Biochemistry; Pearson/Prentice Hall, 2006.
- (66) Garrett, R. H.; Grisham, C. M. *Biochemistry*; Cengage Learning, 2016.
- (67) Neurath, H, R. L. H. *The Proteins Pt 3*, Third Edit.; ACADEMIC PRESS, I., Ed.; Elsevier Science: New York, USA, 1977.
- (68) Miesfeld, R. L.; McEvoy, M. M. *Biochemistry*; W W NORTON & Company,
-

2017.

- (69) Voet, D.; Voet, J. G.; Pratt, C. W. *Fundamentals of Biochemistry: Life at the Molecular Level*; Wiley, 2016.
- (70) Muñoz-Rugeles, L. Estudio Teórico de La Reparación Del Daño Causado Por Radicales Libres de Modelos Proteicos y Lipídicos y Sus Mecanismos de Acción. Tesis Para Obtener El Grado de Doctor En Ciencias Químicas, Universidad Nacional Autónoma de México: Ciudad de México, 2017.
- (71) Muñoz-Rugeles, L.; Galano, A.; Alvarez-Idaboy, J. R. Chemical Repair Mechanisms of Damaged Tyrosyl and Tryptophanyl Residues in Proteins by the Superoxide Radical Anion. *New J. Chem.* **2020**, *44* (6).
- (72) Cuevas, G.; Cortés, F. *Introducción a La Química Computacional*, Primera ed.; Ciencia en el nuevo milenio : monografías de las redes latinoamericanas de ciencias; Fondo de Cultura Económica: México, 2003.
- (73) Leiva, E.; Estrín, D. A. Química Computacional: Simulaciones Matemáticas Del Comportamiento de Átomos y Moléculas. **2011**, *21* (124), 46–50.
- (74) Suárez, D. Objetivos y Características de La Química Computacional y Su Aplicación Al Estudio de Los Materiales de Carbono. *Boletín del Grup. Español del Carbón* **2012**, *25*, 23–28.
- (75) Vázquez, M. I. N.; Chiñas, E. M.; Martínez, F. M. C.; Ruvalcaba, R. M. *Algunos Aspectos Básicos de La Química Computacional*, Primera.; UNAM: México, 2006.
- (76) Levine, I.; Rodríguez, A. R.; Pascual, A. B.; Román, J. Z. *Química Cuántica*, 5ta ed.; Pearson educación; Pearson Educación: Madrid, 2001.
- (77) Hacyan, S. *Mecánica Cuántica Para Principiantes*; La Ciencia para Todos; FCE - Fondo de Cultura Económica, 2015.

- 
- (78) Cruz-Garritz, D.; Chamizo, J. A.; Garritz, A. *Estructura Atómica: Un Enfoque Químico*; Addison-Wesley Iberoamericana: México, 1991.
- (79) Jensen, F. *Introduction to Computational Chemistry*, Second Edi.; Ltd, J. W. & S., Ed.; England, 2007.
- (80) Requena, A.; Romero Braquehais, F. La Aproximación de Born-Oppenheimer. *An. la Univ. Murcia* **1984**, XLIII (1–4), 47–74.
- (81) Castañares, R. L.; Rojas Pedral, M.; Cardoso, Ó. *LA QUÍMICA CUÁNTICA Y EL PREMIO NOBEL 1998*; 1999; Vol. 6.
- (82) Atkins, P.; Paula, J. de. *Química Física*, Novena Edi.; Panamericana, M., Ed.; 2007.
- (83) Ulusoy, I. S.; Wilson, A. K. Slater and Gaussian Basis Functions and Computation of Molecular Integrals. In *Mathematical Physics in Theoretical Chemistry*; 2019.
- (84) A. Carey, F.; Sundberg, R. *Advanced Organic Chemistry*, Fifth Edit.; Springer, Ed.; Advanced Organic Chemistry; Springer US: Boston, MA, 2007.
- (85) Rauk, A. *Orbital Interaction Theory of Organic Chemistry*; John Wiley & Sons, Inc.: New York, USA, 2000; Vol. 9.
- (86) Young, D. C. *Computational Chemistry*; John Wiley & Sons, Inc.: New York, USA, 2001.
- (87) Mueller, M. *Fundamentals of Quantum Chemistry*; Kluwer Academic Publishers: Boston, 2002.
- (88) Koch, W.; Holthausen, M. C. *A Chemist's Guide to Density Functional Theory*, Second Edi.; Wiley: Weinheim, FRG, 2001.
- (89) Vela, A. Logros y Perspectivas de La Química Teórica. *Educ. Química* **2016**, 27 (4), 278–285.
-

- 
- (90) Parr, R. G.; Weitao, Y. *Density-Functional Theory of Atoms and Molecules*; International Series of Monographs on Chemistry; Oxford University Press, 1994.
- (91) Lewars, E. G. *Computational Chemistry: Introduction to the Theory and Applications of Molecular and Quantum Mechanics*; Springer Netherlands, 2010.
- (92) Ramachandran, K. I.; Deepa, G.; Namboori, K. *Computational Chemistry and Molecular Modeling: Principles and Applications*; Springer Berlin Heidelberg, 2008.
- (93) Foresman, J. B.; Frisch, A. E.; Gaussian, I. *Exploring Chemistry with Electronic Structure Methods*; Gaussian, Inc., 1996.
- (94) Levine, I. N. *Physical Chemistry*; McGraw-Hill, 2008.
- (95) Cramer, C. J. *Essentials of Computational Chemistry: Theories and Models*; Wiley, 2013.
- (96) Ferré, N.; Filatov, M.; Huix-Rotllant, M. *Density-Functional Methods for Excited States*; Topics in Current Chemistry; Springer International Publishing, 2015.
- (97) Levine, I. N. *Quantum Chemistry*; Pearson advanced chemistry series; Pearson, 2014.
- (98) Mardirossian, N.; Head-Gordon, M. Thirty Years of Density Functional Theory in Computational Chemistry: An Overview and Extensive Assessment of 200 Density Functionals. *Mol. Phys.* **2017**, *115* (19), 2315–2372.
- (99) Chattaraj, P. K. *Chemical Reactivity Theory: A Density Functional View*; CRC Press, 2009.
- (100) Marenich, A. V.; Cramer, C. J.; Truhlar, D. G. 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. *J. Phys. Chem. B* **2009**, *113* (18), 6378–6396.
- (101) Bort, J. A.; Nebot-Gil, I.; Ugalde, J. M.; Caballol, R.; Solá, M.; Novoa, J.; Largo, A.; Illas, F.; Ricart, J. M.; Alvariño, J. M.; et al. *Química Teórica y Computacional*; Ciències Experimentals; Publicacions de la Universitat Jaume I, 2001.
- (102) Engel, T.; Reid, P. J.; Rodríguez, A. R.; Román, J. Z.; Pascual, A. B. *Introducción a La Fisicoquímica: Termodinámica*; Pearson Educación, 2007.
- (103) Atkins, P.; de Paula, J. *Atkins' Physical Chemistry*; OUP Oxford, 2010.
- (104) Arnaut, L. G.; Formosinho, S. J.; Burrows, H. *Chemical Kinetics: From Molecular Structure to Chemical Reactivity*; Elsevier Science, 2006.
- (105) Galano, A.; Alvarez-Idaboy, J. R. A Computational Methodology for Accurate Predictions of Rate Constants in Solution: Application to the Assessment of Primary Antioxidant Activity. *J. Comput. Chem.* **2013**, *34* (28), 2430–2445.
- (106) Marcus, R. A. Electron Transfer Reactions in Chemistry: Theory and Experiment (Nobel Lecture). *Angew. Chemie Int. Ed. English* **1993**, *32* (8), 1111–1121.
- (107) Silverstein, T. P. Marcus Theory: Thermodynamics CAN Control the Kinetics of Electron Transfer Reactions. *J. Chem. Educ.* **2012**, *89* (9), 1159–1167.
- (108) Galano, A. Estrés Oxidativo, Radicales Libres, Antioxidantes Y... ¿Química Computacional? *Bol. La Soc. Quim. Mex.* **2017**, No. 48, 113.
- (109) Stubbe, J. A.; Van Der Donk, W. A. Protein Radicals in Enzyme Catalysis. *Chem. Rev.* **1998**, *98* (2), 705–762.
- (110) Prütz, W. A. Free Radical Transfer Involving Sulphur Peptide Functions. In *Sulfur-Centered Reactive Intermediates in Chemistry and Biology*; Springer

- 
- US: Boston, MA, 1990; pp 389–399.
- (111) Taniguchi, H.; Hasumi, H.; Hatano, H. Electron Spin Resonance Study of Amino Acid Radicals Produced by Fenton's Reagent. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1972**, *45* (11), 3380–3383.
- (112) Patten, F.; Gordy, W. Temperature Effects on the Formation of Free Radicals in the Amino Acids. *Radiat. Res.* **1961**.
- (113) Gunther, M. R. Probing the Free Radicals Formed in the Metmyoglobin-Hydrogen Peroxide Reaction. *Free Radical Biology and Medicine*. 2004.
- (114) Xu, G.; Chance, M. R. Radiolytic Modification of Sulfur-Containing Amino Acid Residues in Model Peptides: Fundamental Studies for Protein Footprinting. *Anal. Chem.* **2005**, *77* (8).
- (115) Forbes, W. F.; Sullivan, P. D. Free Radicals of Biological Interest. II. Electron Spin Resonance (ESR) Spectra of 2537 A Irradiated Amino Acids. *Can. J. Biochem.* **1967**, *45* (12).
- (116) Stubbe, J.; van der Donk, W. A. Protein Radicals in Enzyme Catalysis. [Chem. Rev. 1998 , 98 , 705–762. *Chem. Rev.* **1998**, *98* (7), 2661–2662.
- (117) Sealy, R. C.; Harman, L.; West, P. R.; Mason, R. P. The Electron Spin Resonance Spectrum of the Tyrosyl Radical. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107* (12), 3401–3406.
- (118) Land, E. J.; Prütz, W. A. Reaction of Azide Radicals with Amino Acids and Proteins. *Int. J. Radiat. Biol. Relat. Stud. Physics, Chem. Med.* **1979**, *36* (1), 75–83.
- (119) Lanzalunga, O.; Lapi, A. Recent Photo-and Radiation Chemical Studies of Sulfur Radical Cations. *Journal of Sulfur Chemistry*. February 1, 2012, pp 101–129.

- 
- (120) Kurchii, B. A. Abscisic Acid, Ethylene and Phosphatidylinositols Are End Substances of the Carotene and Lipid Oxidative Breakdown and Sophisticated Signalling Molecules. In *International Conference "Photosynthesis and Crop Production"*; Kyiv, Ukraine, 2002; pp 70–71.
- (121) Schöneich, C. Methionine Oxidation by Reactive Oxygen Species: Reaction Mechanisms and Relevance to Alzheimer's Disease. *Biochim. Biophys. Acta - Proteins Proteomics* **2005**, *1703* (2), 111–119.
- (122) Bobrowski, K.; Houée-Levin, C.; Marciniak, B. Stabilization and Reactions of Sulfur Radical Cations: Relevance to One-Electron Oxidation of Methionine in Peptides and Proteins. *Chimia (Aarau)*. **2008**, *62* (9).
- (123) Strzelczak, G.; Bergès, J.; Houée-Levin, C.; Pogocki, D.; Bobrowski, K. EPR Spectroscopy and Theoretical Study of  $\gamma$ -Irradiated Asparagine and Aspartic Acid in Solid State. *Biophys. Chem.* **2007**.
- (124) Rustgi, S.; Joshi, A.; Moss, H.; Riesz, P. E.S.R. Of Spin-Trapped Radicals in Aqueous Solutions of Amino Acids: Reactions of the Hydroxyl Radical. *Int. J. Radiat. Biol.* **1977**, *31* (5).
- (125) Marković, V.; Nikolić, D.; Mičić, O. I. Pulse-Radiolysis of Glycine and Alanine at PH 0–7. *Int. J. Radiat. Phys. Chem.* **1974**, *6* (4), 227–232.
- (126) Taniguchi, H.; Hatano, H.; Hasegawa, H.; Maruyama, T. Free-Radical Intermediates in the Reaction of the Hydroxyl Radical with Amino Acid Derivatives and Related Compounds. *J. Phys. Chem.* **1970**, *74* (16), 3063–3065.
- (127) Hawkins, C. L.; Davies, M. J. EPR Studies on the Selectivity of Hydroxyl Radical Attack on Amino Acids and Peptides. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1998**.
- (128) Taniguchi, H.; Fukui, K.; Ohnishi, S.; Hatano, H.; Hasegawa, H.; Maruyama, T. Free-Radical Intermediates in the Reaction of the Hydroxyl Radical with
-

Amino Acids. *J. Phys. Chem.* **1968**, 72 (6), 1926–1931.

- (129) Gaussian'09; Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Mennucci, B.; et al. Gaussian'09, Inc., Wallingford CT. *Gaussian, Inc. Wallingford CT.* 2009.
- (130) Zhao, Y.; Truhlar, D. G. 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. *Theor. Chem. Acc.* **2008**, 120 (1–3), 215–241.