



**Universidad Nacional Autónoma de México**

**Facultad de Química**

**Estudio teórico de la capacidad antioxidante de kaempferol, componente  
de las semillas de chía (*Salvia hispanica L.*)**

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**QUÍMICA DE ALIMENTOS**

PRESENTA

**MARIANA MONTIEL GARCÍA FERNÁNDEZ**

ASESOR DEL TEMA

DR. MIGUEL REINA TAPIA

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX, 2022





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.

## ***Agradecimientos***

*A la Universidad Nacional Autónoma de México, por todo lo que me ha dado y lo que he aprendido.*

*A la Facultad de Química, por todo el aprendizaje y conocimiento adquirido y por darme a unas de las mejores personas que pude haber conocido.*

*Al Doctor Miguel Reina Tapia, por esta gran oportunidad, el enorme reto que representó desarrollar este proyecto y sacarme de mi zona de confort.*

*A la Dra. Annia Galano, profesora de la UAM-Iztapalapa y a supercómputo Yoltla por la oportunidad de trabajar con tan poderosa herramienta.*

## ***Dedicatoria***

*A mis padres, por su apoyo incondicional, por impulsarme para alcanzar mis sueños y darme todas las herramientas necesarias para desarrollarlos. Por ser los mejores padres que pude haber pedido y por haberme enseñado que después de cada error, se aprende algo nuevo.*

*A Angie, por ser la hermana que no tuve, por todo lo que me has enseñado y las largas pláticas sobre la vida.*

*A Fanny, a Yess, a Anita, muchas gracias por todo su apoyo, por su tiempo y por resolverme las mil dudas que surgían. Agradezco a la vida por haberlas conocido y recorrido gran parte de este camino con ustedes. Y por las tardes de uno.*

*Gracias por ser la familia que escogí.*

*A todas las personas que me apoyaron a lo largo de este proyecto.*

*A mis tíos, Carlos, Karina, Paty y Lipe. Muchas gracias por todo.*

*A mis padrinos, Alfredo y Eva.*

*“Sea lo que sea que puedas hacer o que sueñes con hacer, comiéndalo. La osadía alberga en su interior genio, poder y magia.”*

*Johann Wolfgang von Goethe.*

## Índice

I.- Introducción	6
II.- Antecedentes	16
III.- Objetivo	23
Objetivo general	23
Objetivos particulares	23
IV.- Metodología	24
Marco teórico	24
Detalles computacionales	27
V.- Resultados y discusión	33
Estudio de la capacidad antioxidante de kaempferol	33
Efecto calcógeno en la posición 4 de la molécula de kaempferol	42
Comparación con otros flavonoides	51
Efecto calcógeno en kaempferol, quercetina y crisina	55
VI.- Conclusiones	66

## ***I.- Introducción***

El estrés oxidativo es el resultado de un desbalance químico entre la producción y el consumo de oxidantes. Se trata de un proceso que puede dañar todas las estructuras celulares.<sup>1</sup> Normalmente, el cuerpo humano está diseñado para controlar la producción y remoción de oxidantes, sin embargo, en altas concentraciones, estos pueden afectar a las biomoléculas. Además, el daño que pueden provocar se potencia por aspectos ambientales y fisiológicos.<sup>1-4</sup> Los padecimientos provocados por el estrés oxidativo son un problema de salud pública a nivel mundial. El estrés oxidativo está relacionado con enfermedades crónico degenerativas como Alzheimer, Parkinson, esclerosis múltiple, hipertensión, arteriosclerosis, diabetes tipo 2, enfermedades renales, oculares, pulmonares y algunos tipos de cáncer; sobre todo los relacionados con estrógenos como el cáncer de seno y de próstata.<sup>5-8</sup> En la Figura 1 se reseñan algunas enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo.

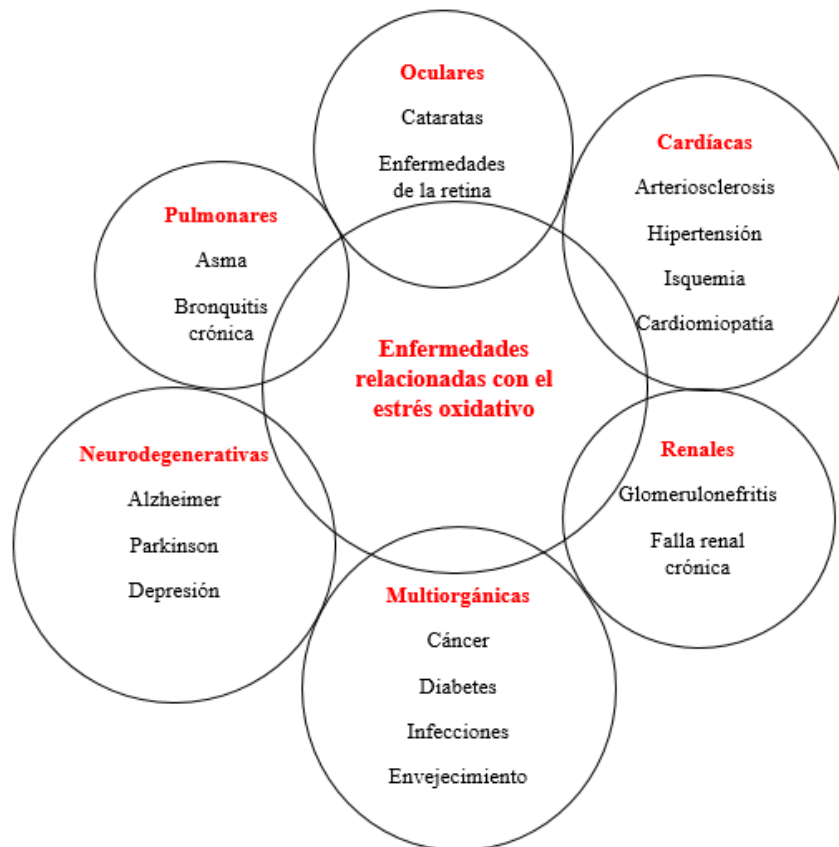


Figura 1. Enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo.

En este trabajo, nos centraremos en los radicales libres, que se definen como moléculas o iones con un número impar de electrones y que se caracterizan por ser altamente reactivos.<sup>1</sup> En altas concentraciones, los radicales libres son oxidantes especialmente perniciosos y se han relacionado sistemáticamente con la generación de estrés oxidativo. Sin embargo, en concentraciones moderadas, participan en numerosos procesos biológicos benéficos, como la estimulación de la división celular, en el sistema de señalización celular, en la apoptosis celular y en la regulación de ciertos receptores.<sup>9</sup> Entre los radicales libres, se encuentran los que están centrados en átomos de nitrógeno, azufre, oxígeno y carbono. En la Tabla 1 se reportan algunos de estos radicales libres.

Tabla 1. Radicales libres centrados en nitrógeno, azufre, oxígeno y carbono.

Radicales libres de nitrógeno	Radicales libres de azufre	Radicales libres de oxígeno	Radicales libres de carbono
NO• NOO•	HS• HS• <sup>2-</sup>	•OH •OOH O <sub>2</sub> • <sup>-</sup>	CH <sub>3</sub> • CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> •

Entre las especies reactivas de nitrógeno se encuentra el óxido nítrico (NO•), que es un radical libre producto directo de la actividad fagocítica del cuerpo humano ante infecciones.<sup>10</sup> Por otro lado, los radicales libres centrados en azufre como HS•, HS•<sup>2-</sup>, son menos reactivos que los centrados en oxígeno.<sup>1</sup> Con respecto a los radicales libres centrados en oxígeno, el radical hidroxilo (•OH) es el radical libre más reactivo y se puede formar a nivel intracelular a partir de O<sub>2</sub>•<sup>-</sup> y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en presencia de iones metálicos como el cobre o el hierro.<sup>2,11,10</sup> El primer paso para la producción del radical •OH es por medio de la reacción de Haber-Weiss (Ecuación 1), catalizada por cationes metálicos.<sup>2,11</sup> El siguiente paso (Ecuación 2), consiste en la reacción de Fenton, en la cual Fe<sup>2+</sup> reacciona con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y los productos son Fe<sup>3+</sup>, el radical •OH, y OH<sup>-</sup>; ya que el Fe<sup>3+</sup> es un catalizador (se consume y se regenera) se pueden producir grandes cantidades del radical •OH.<sup>2,14,16</sup>



Los radicales •OH reaccionan con lípidos, polipéptidos, proteínas y ácidos nucleicos, especialmente tiamina y guanosina, y de esta forma pueden provocar mutaciones en el ADN.<sup>10</sup>



Otros radicales libres centrados en oxígeno son los ROO•, llamados radicales peroxilo, que se forman por reacción directa de oxígeno con radicales alquilo, •R;<sup>10</sup> como se puede observar en la Ecuación 3.<sup>13</sup> En el contexto del estrés oxidativo, los radicales alquilo, •R, se forman por medio de la oxidación de los ácidos grasos insaturados.<sup>14</sup>



Los radicales •OOH son llamados radicales hidropoxilo. En la Ecuación 4 se observa que es el producto de la protonación del anión del radical superóxido (O<sub>2</sub>•<sup>-</sup>).<sup>15</sup> El •OOH/O<sub>2</sub>•<sup>-</sup> tiene un pKa=4.8, por lo que la reacción está favorecida a pH superior a 4.8, en medio fisiológico su concentración es baja, pero relevante.<sup>16</sup>



El •OOH también es la molécula más pequeña de la familia de los radicales hidropoxilo, entre los que destacan los radicales lipídicos peroxilo (LOO•), que se pueden formar por la interacción de oxígeno molecular con los ácidos grasos radicalarios durante el proceso de autoxidación.<sup>17</sup> Se ha propuesto que el radical •OOH tiene un papel esencial en los efectos tóxicos de la respiración aeróbica, debido a que tiene una alta reactividad y, por su naturaleza no cargada, puede atravesar la membrana celular más fácilmente que otros tipos de radicales, como el •O<sub>2</sub><sup>-</sup>.<sup>18,19</sup> Los radicales libres centrados en los átomos de nitrógeno, azufre y oxígeno, tienen una importante función en el mantenimiento del organismo, pero el desequilibrio que puede haber entre su producción y su remoción genera estrés oxidativo.

Debido a que en los últimos años ha habido un incremento importante en enfermedades no contagiosas, como la obesidad, el sobrepeso, la diabetes, la hipertensión y los problemas cardiovasculares, se han buscado alternativas para solucionarlos y prevenirlos. Una de las alternativas es el consumo de antioxidantes. Los antioxidantes son sustancias que pueden retrasar o prevenir el daño provocado por los radicales libres a las moléculas biológicas como: lípidos, proteínas, carbohidratos y ácidos nucleicos<sup>2</sup> y, una forma de clasificarlos es en endógenos y exógenos.<sup>20</sup> Por un lado, los antioxidantes endógenos, que se producen en el cuerpo humano, se dividen en enzimáticos, y en no enzimáticos. Por otro lado, los antioxidantes exógenos se obtienen por medio de la alimentación. En la Figura 2 se encuentra esta clasificación ilustrada a detalle, en la que además se incluyen algunos ejemplos.

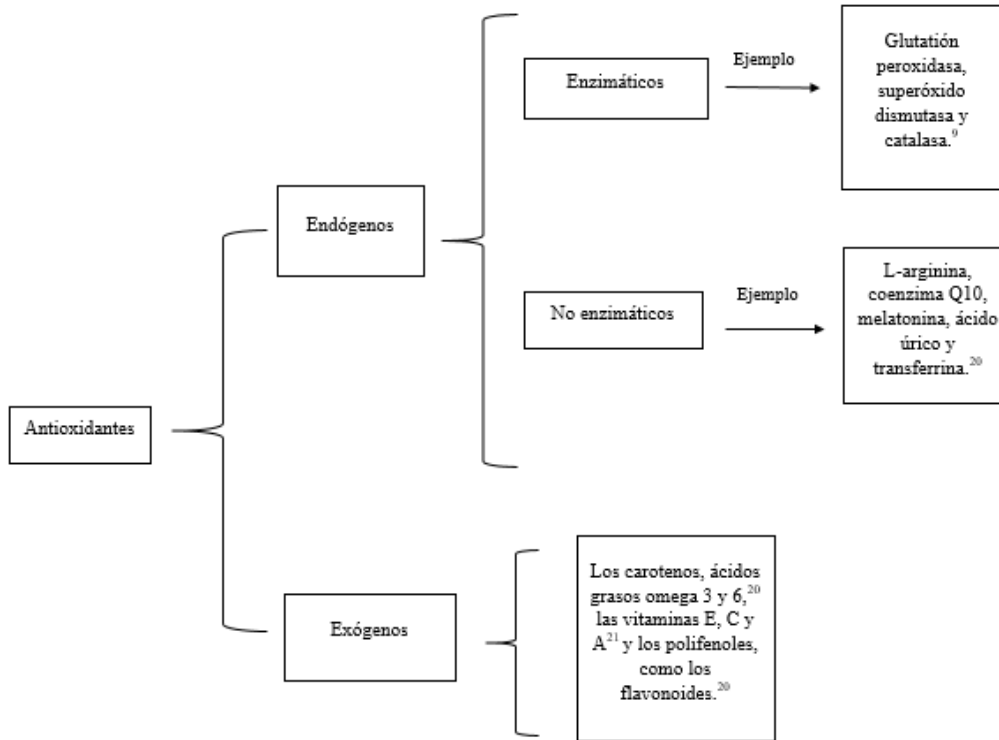
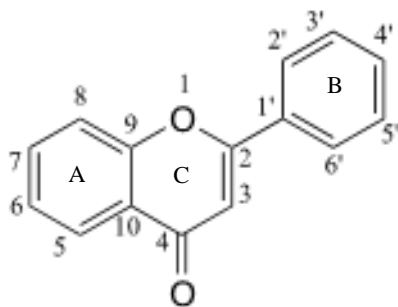


Figura 2. Clasificación de los antioxidantes en endógenos y exógenos.

Además, los antioxidantes también se pueden clasificar en primarios y secundarios de acuerdo con su mecanismo de acción. Los antioxidantes primarios se encargan de prevenir la oxidación. Pueden reaccionar directamente con los radicales libres y, en consecuencia, se producen menos especies reactivas o bien, suspender una cascada de radicales libres. Los antioxidantes secundarios se encargan de retardar la oxidación por medio de vías indirectas, tales como la quelación de metales, la desactivación del oxígeno singulete o la descomposición de hidroperóxido a especies no radicalarias.<sup>22</sup> En este trabajo nos centraremos en la capacidad antioxidante primaria. En general, las características de un antioxidante ideal son que debe estar presente en cantidades adecuadas en el cuerpo, tiene que ser versátil, es decir, que pueda estabilizar a varios tipos de radicales libres, debe poder obtenerse por medio de la dieta o bien, debe ser sintetizado por el organismo, debe de ser capaz de regenerarse y debe tener una baja toxicidad.<sup>23</sup>

Una de las familias más importantes de antioxidantes exógenos son los flavonoides. Los flavonoides se encuentran ampliamente presentes en las plantas y actúan como agentes

antimicrobianos, antiinflamatorios, antioxidantes, antivirales, antifúngicos, antitumorales, antitrombóticos, antilipémicos, antiateroscleróticos, antibacteriales y antiapoptóticos.<sup>6,19</sup> Se ha encontrado que el consumo de flavonoides está asociado con una disminución del estrés oxidativo, debido sobre todo a su capacidad antioxidante.<sup>24</sup> En el Esquema 1 se presenta numerada la estructura molecular de la flavona, que es el marco estructural de los flavonoides, compuestos de bajo peso molecular y que comparten un esqueleto común compuesto por dos anillos aromáticos, A y B, ligados a través de un anillo C de pirano.<sup>6</sup>



Esquema 1. Estructura molecular de la flavona, marco estructural de los flavonoides.

Los flavonoides se pueden obtener por medio de los alimentos. Los alimentos no solo proveen energía y nutrientes, sino también tienen un gran impacto en la salud. Los alimentos funcionales han tenido un auge importante en la sociedad actual. Los alimentos funcionales son aquellos productos que, además de cubrir el requerimiento nutricional, es decir cumplen con la cantidad de un determinado nutrimento que necesita un individuo para el mantenimiento de un buen estado de salud, de forma natural tienen un componente que ofrece beneficios, físicos o biológicos, para quien lo consume. Por otro lado, también se trata de alimentos industrializados que son fortificados o enriquecidos con algún componente como vitaminas, minerales, probióticos y antioxidantes, entre otros.<sup>25</sup> El reciente interés en estos productos se ha incrementado por los beneficios que pueden ofrecer, desde ser protectores cardiovasculares, como la soya; al mantenimiento del sistema digestivo, como los yogurtes de avena y hasta la protección del sistema óseo, como las espinacas y el brócoli.<sup>25</sup>

Un factor que ha contribuido al interés en los alimentos funcionales es el problema de sobrepeso y obesidad, ya que no solo afecta a los países desarrollados, sino que ahora también

está en aumento en los países emergentes, como México. En la Figura 3, están representados algunos países miembros de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE) y el porcentaje de la población mayor de 15 años con problemas de sobrepeso. En ella, se puede observar que México ocupa el primer lugar en obesidad en el año 2021 y hoy en día, más del 70% de la población adulta en el país tiene exceso de peso,<sup>26</sup> es decir acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud. Esta situación tiene consecuencias económicas y sanitarias. El costo total de los problemas de sobrepeso y obesidad en México aumentaron de 35,429 millones de pesos mexicanos en 2000 a 67,345 millones en 2008.<sup>27</sup> Además, se espera que este costo aumente a 272,000 millones en 2023,<sup>28</sup> más del cuádruple de lo reportado en 2008. Como se puede observar en la gráfica, en más de la mitad de los países presentados, el porcentaje de la población mayor de 15 años que padece obesidad supera el 50%. Por este motivo, es prioritario buscar soluciones para este padecimiento y ejecutarlas a la brevedad.

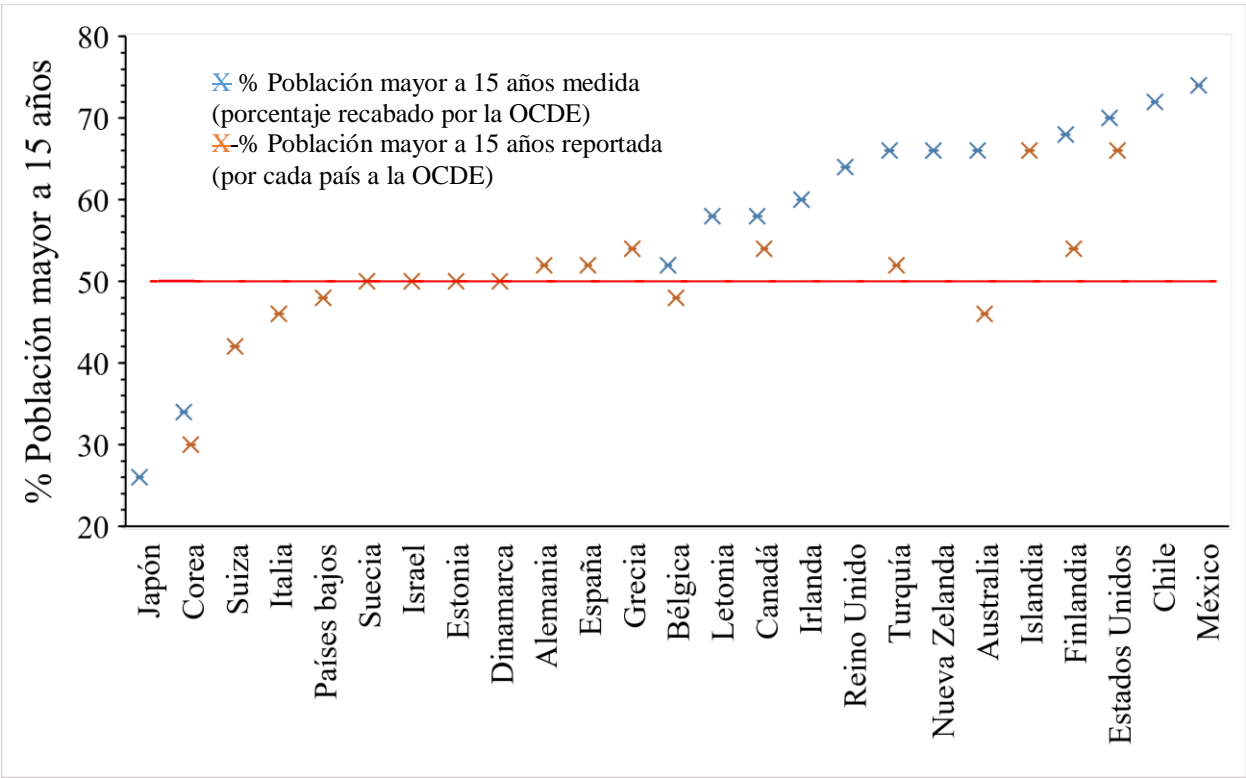


Figura 3. Porcentaje de población mayor a 15 años con obesidad por país. Fuente OCDE, 2021.

En este mismo contexto, la diabetes es un padecimiento que puede ser una consecuencia de la obesidad. Con base en los datos reportados por la Federación Internacional de Diabetes,

se sabe que hasta el año 2020, en México la prevalencia de la enfermedad fue del 15.2%, con 12,805,200 casos de diabetes en adultos. Según datos de la Federación Mexicana de Diabetes el número de defunciones por diabetes en México anuales, desde 1975 hasta el año 2016, ha aumentado considerablemente, como se puede observar en la Figura 4. Con respecto a los datos del Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática, INEGI, la diabetes es la tercera causa de muerte en el país, solamente superada por las enfermedades cardiovasculares y el Covid-19 en primer y segundo lugar, respectivamente, en el año 2021.

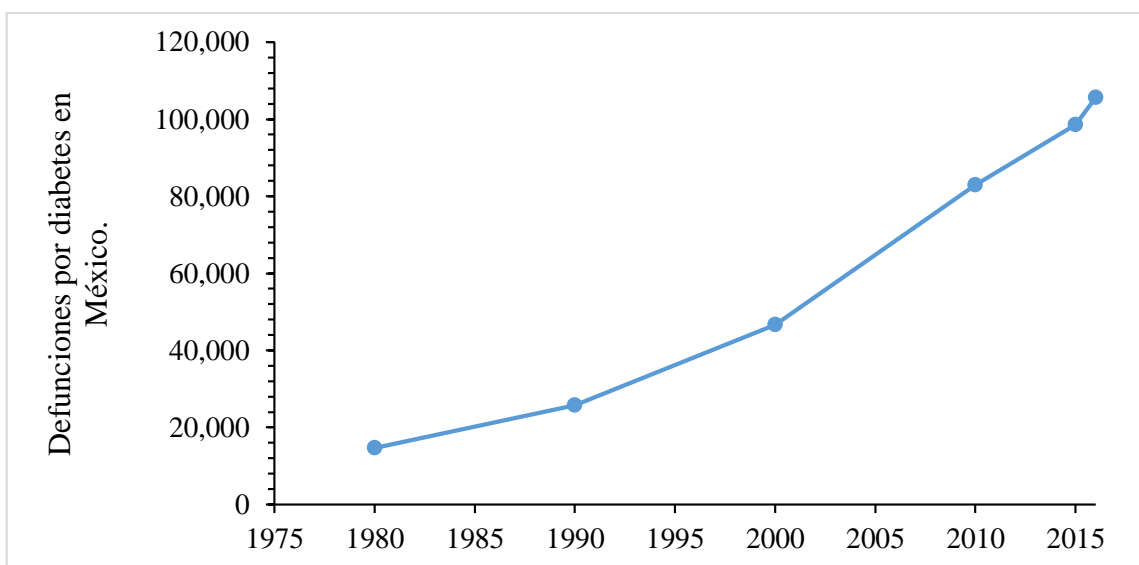


Figura 4. Número de defunciones por diabetes al año en México. Fuente Federación Mexicana de Diabetes, 2016.

Una forma de prevención de la obesidad y de la diabetes es la alimentación y debido a ello, los alimentos funcionales pueden ser la clave para prevenir estos problemas. Por esta razón, en este proyecto se estudió computacionalmente al flavonoide kaempferol (Kmp), contenido en la chía, producto de la planta *Salvia hispánica*, un alimento funcional muy conocido en México. Las razones para estudiar el kaempferol se encuentran en los antecedentes, que a continuación se presentan.

## Referencias:

1. Galano, A. Free Radicals Induced Oxidative Stress at a Molecular Level: The Current Status, Challenges and Perspectives of Computational Chemistry Based Protocols, *Journal of the Mexican Chemical Society*, **2015**, 59/4, 231-262.
2. Reina, M. 2017. Estudio teórico de la capacidad para atrapar radicales libres de compuestos con cúmulos metálicos. Tesis de Doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México. Págs. 6,7.
3. Galano, A.; Castañeda-Arriaga, R.; Pérez-González, A.; Dun-Xian, T.; Reiter, R. Phenolic Melatonin-Related Compounds: Their Role as Chemical Protectors against Oxidative Stress, *Molecules*, **2016**, 21, 1-42.
4. Venereo, J. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes, *Revista Cubana de Medicina Militar*, **2002**, 31/2, 126-133.
5. Galano, A.; Reiter, R. Melatonin and its Metabolites versus Oxidative Stress: From Individual Actions to Collective Protection, *Journal of Pineal Research*, **2018**, 65/1, 1-33.
6. Quiñones, M.; Miguel, M.; Aleixandre, A. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular, *Nutrición Hospitalaria*, **2021**, 27/1, 76-89.
7. Rogan, Eleanor.; Cavalieri, Ercole. Oxidative Stress Volume 2: diagnostics, prevention and therapy, **2015**, 35-51, 53-90, 91-145.
8. García-Figueredo, I.; Candia, M.N., Pereida-Meira, C.M.; Laborí-Carda, C.M.; Role of estrogens and their receptors in benign and malignant prostate diseases: part 1, *Revista Mexicana de Urología*, **2015**, 75/2, 283-291.
9. Sen, S.; Chakraborty, R. Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention, and Therapy. American Chemical Society. Washington, DC, **2011**, 1,4,21.
10. Maurya, P. Animal Biotechnology, Models in Discovery and Translation, Academic Press, Amsterdam, **2014**, 177-191.
11. Galano, A. Estrés oxidativo, radicales libres, antioxidantes y... ¿Química Computacional? *Boletín de la Sociedad Química de México*, **2017**, 11/3, 21-26.
12. Rubio, A.; Chica, E.; Peñuela, G. Aplicación del proceso Fenton en el tratamiento de aguas residuales de origen petroquímico, *Ingeniería y Competitividad*, **2014**, 16/2, 211 – 223.

13. Labarbe, R.; Hotoiu, L.; Barbier, J.; Favaudon, V. A physicochemical model of reaction kinetics supports peroxy radical recombination as the main determinant of the FLASH effect, *Radiotherapy and Oncology*, **2020**, *153*, 303-310.
14. Boveris, A.; Costa, L.; Junqueira, V. Envejecimiento mitocondrial. La teoría del envejecimiento mitocondrial por la acción continua de los radicales libres del oxígeno y del nitrógeno, *Ciencia e Investigación*, **2000**, *3(1)*, 13-23.
15. Wang, Y.; Xu, J.; Li, J.; Wu, F. Natural montmorillonite induced photooxidation of As(III) in aqueous suspensions: Roles and sources of hydroxyl and hydroperoxyl/superoxide radicals, *Journal of Hazardous Materials*, **2013**, *260*, 255-262.
16. Galano, A.; Álvarez, J. A computational methodology for accurate predictions of rate constants in solution: application to the assessment of primary antioxidant activity, *Journal of Computational Chemistry*, **2013**, *34*, 2430-2445.
17. Fennema, O. Química de los Alimentos, Acribia, España, **2010**, 306-307.
18. De Grey, A. HO<sub>2</sub>•: The Forgotten Radical, *DNA and Cell Biology*, **2002**, *21/4*, 251-257.
19. Mazzone, G.; Galano, A.; Alvarez-Idaboy, J.; Russo, N. Coumarin-Chalcone Hybrids as Peroxyl Radical Scavengers: Kinetics and Mechanisms, *Journal of Chemical Information and Modeling*, **2016**, *56*, 662-670.
20. Pham, L.; He, H.; Pham, C. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health, *International journal of Biomedical science*, **2008**, *4/2*, 89-96.
21. Mariaca, C.; Zapata, M.; Uribe, P. Oxidación y antioxidantes: hechos y controversias, *Revista de la Asociación Colombiana de Dermatología y Cirugía Dermatológica*, **2016**, *24/3*, 162-173.
22. Gordon, M. Antioxidants in Food: practical applications, Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. Florida, **2001**, 7-21.
23. Rose, R.; Bode, A. Biology of free radicals scavengers: an evaluation of ascorbate, *The FASEB Journal*, **1993**, *7*, 1135- 1142.
24. Estrada, R.; Ubaldo, D.; Araujo, A. Los flavonoides y el sistema nervioso central, *Salud Mental*, **2012**, *35/5*, 375-384.
25. Guo, M. Functional Foods. Principles and Technology, CRC Press, Inglaterra, **2009**, 1-8, 9-61.

26. Dávila, J.; González, J.; Barrera, A. Panorama de la obesidad en México, *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*, **2015**, 53/2, 240-9.
27. Carrete, L.; Arroyo, P. Social marketing to improve healthy dietary decisions: Insights from a qualitative study in Mexico, *Qualitative Market Research*, **2014**, 17/3, 239-263.
28. Notimex. Alcanzará los 272 mmdp el costo de obesidad para 2023. Excelsior. México. **31-03-2019**.



## ***II.- Antecedentes***

En este proyecto computacional se estudió la molécula de kaempferol contenida en la semilla de chía, componente de la planta *Salvia hispánica*. A pesar de que hay infinidad de alimentos funcionales actualmente en el mercado, se decidió analizar este alimento debido a que es de origen mexicano, con importantes propiedades biológicas y poseedora de una capacidad antioxidante relevante.<sup>1</sup> La chía (*Salvia hispánica L.*) (Figura 1) pertenece a la familia de la menta (*Lamiaceae*) y fue cultivada en México y Guatemala por los mayas y aztecas de la época precolombina. La palabra *chía* es la adaptación al español de la palabra *chian* o *chien*, por su forma plural, que significa “aceitoso” y proviene del náhuatl. El nombre de chía fue adoptado por el botánico sueco Carl Nilsson Linnæus.<sup>1</sup>



Figura 1. Aspecto general de *Salvia hispánica L.*<sup>2</sup>

Las semillas de chía son una fuente concentrada de ácidos grasos omega-3 (principalmente ácido  $\alpha$ -linolénico), fibra y compuestos polifenólicos (miricetina, quercetina, ácidos clorogénico y cafeico así como kaempferol). Se ha encontrado que la concentración de estos compuestos es comparativamente más alta que en muchos cereales como trigo y arroz.<sup>3</sup> Las semillas de chía se caracterizan por tener niveles seguros de metales pesados, están exentas de micotoxinas y no contienen gluten.<sup>4</sup> En la Tabla 1 se encuentra la composición de la semilla de chía.<sup>5</sup> Por otro lado, la concentración de los polifenoles presentes en extractos de la semilla de chía se presenta en la Tabla 2.<sup>6</sup>

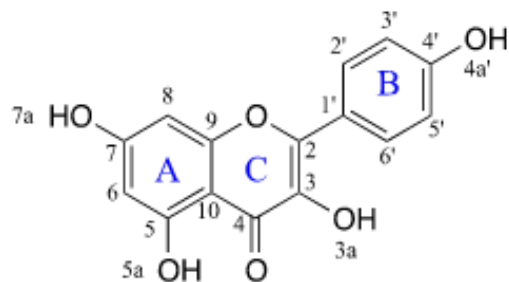
Tabla 1. Composición de semillas de chía (100 g de porción comestible).

Nutriente	(Unidad)	Valor
Hidratos de carbono	(%)	26
Lípido total (grasa)	(%)	33
Fibra dietética	(%)	18
Proteína	(%)	15
Ceniza	(%)	5
Fósforo	mg	860
Calcio	mg	631
Potasio	mg	407
Magnesio	mg	335
Tiamina	mg	0.18
Niacina	mg	0.00613

Tabla 2. Concentración de polifenoles presentes en extractos de semilla de chía.

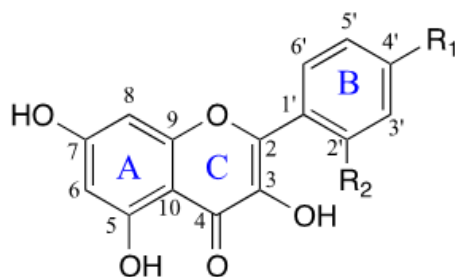
Compuesto	semilla de chía (g/Kg)
Kaempferol	$1.1 \times 10^{-3}$
Ácido cafeico	$13.5 \times 10^{-3}$
Quercetina	$0.2 \times 10^{-3}$
Miricetina	$3.1 \times 10^{-3}$
Ácido clorogénico	$7.1 \times 10^{-3}$

El kaempferol (Esquema 1) es una molécula polifenólica proveniente de los alimentos. Es un flavonoide presente en la fresa, el té negro, la calabaza, la zanahoria, el brócoli, la coliflor, los frijoles y en la semilla de chía.<sup>7</sup> El kaempferol tiene propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, de protección cardiovascular y otras, que permiten la reparación celular ante el daño provocado por los radicales libres y el estrés oxidativo.<sup>8</sup> La molécula consta de tres anillos, dos anillos aromáticos, A y B, ligados a través de un anillo C de pirano.<sup>9</sup> Tiene cuatro grupos hidroxilo en las posiciones 7a, 4a', 3a y 5a, y un grupo ceto en el carbono 4.



Esquema 1. Estructura molecular del kaempferol.

En el artículo intitulado “A DFT Study on the Structural and Antioxidant Properties of Three Flavonols” de los autores Y. Zhi, Z. Wu y B. Zhao y publicado en *Food Biophysics* en el año 2013, se evaluó la capacidad antioxidante del kaempferol, galangina y morina. La galangina está presente en el propóleo y la morina en la manzana, la naranja, la uva, la cebolla, el vino rojo y el café.<sup>11-13</sup> Se estudiaron estos tres flavonoides, que se presentan en el Esquema 2, por medio de la Teoría del Funcional de la Densidad para verificar los resultados obtenidos experimentalmente.



Kaempferol:  $R_1=OH$ ,  $R_2=H$

Galangina:  $R_1=H$ ,  $R_2=H$

Morina:  $R_1=OH$ ,  $R_2=OH$

Esquema 2. Estructura molecular de los flavonoides estudiados.

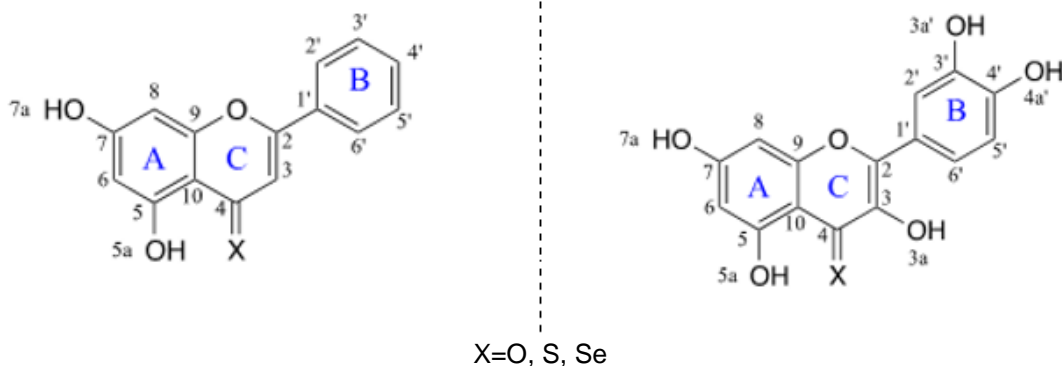
En este estudio computacional la capacidad antioxidante de esas moléculas se analiza por medio del análisis de la estructura de los flavonoides, de la entalpía de disociación del enlace O-H en la abstracción de los átomos de hidrógeno y, también por medio del potencial de

ionización para el mecanismo de transferencia SET (*Single Electron Transfer*, mecanismo de transferencia de un electrón). Con respecto al análisis de la estructura de los flavonoides, se concluyó que la estructura del compuesto influye en los valores de la entalpía de disociación del enlace. Se concluyó que entre más pequeño sea el valor de la entalpía de disociación del enlace, más fácil es que el enlace O-H de los grupos hidroxilos de los flavonoides se rompan y, por lo tanto, es mayor la capacidad antioxidante. La entalpía de disociación del enlace se evaluó para los grupos hidroxilo de cada una de las especies neutras de los flavonoides, encontrándose que la menor entalpía fue en la posición 3a, para las tres especies. De igual forma entre más pequeño sea el potencial de ionización más fácil es la transferencia del electrón.

De los tres flavonoides estudiados, el que tiene mayor capacidad antioxidante es el kaempferol, seguido por la morina y por último la galangina. Estos resultados concuerdan con los reportados en el artículo “Structure-Activity Relationships of Flavonoids in the Cellular Antioxidant Activity Assay” de los autores K. Wolfe y R. Liu y publicado en el *Journal of Agricultural and Food Chemistry* en el año 2008, en el cual se evaluó la eficacia de captación de radicales peroxilo por medio de un ensayo ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*, capacidad de absorción de radicales de oxígeno). Se compararon más flavonoides, entre los que destacan la quercetina y la miricetina, presentes en la semilla de chía junto con el kaempferol. De estos tres, la quercetina tiene mayor capacidad antioxidante, seguido por el kaempferol y por último la miricetina.

Además, se ha encontrado evidencia de que la modificación de las moléculas polifenólicas puede potenciar su capacidad antioxidante.<sup>15,16</sup> En el artículo intitulado “Chalcogen Effects on the Primary Antioxidant Activity of Chrysin and Quercetin” de los autores R. Castañeda, T. Marino, N. Russo, J. Álvarez-Idaboy y A. Galano, y publicado en *New Journal of Chemistry*, en el año 2020, se estudió la capacidad antioxidante de las moléculas de quercetina (QR) y crisina (CNA).

En el Esquema 3 se observan las estructuras moleculares de QR y CNA con su respectiva sustitución.



Esquema 3. Estructura molecular de crisina y quercetina, respectivamente, con el sitio de sustitución.

La capacidad antioxidante de QR y CNA se analiza sustituyendo el átomo de oxígeno en posición 4 por átomos de azufre y selenio, con la expectativa de mejorar la capacidad antioxidante. Los principales resultados indican que la sustitución con azufre y selenio mejora la capacidad antioxidante de las moléculas de QR y CNA.

Derivado de estos antecedentes, en este trabajo se estudia la molécula de kaempferol y su capacidad antioxidante primaria. Igualmente, se modificó su estructura y se sustituyó el átomo de oxígeno en posición 4 por átomos de azufre y selenio. Esta modificación se discutirá ampliamente en el capítulo de Resultados y Discusión, así como la comparación de los resultados obtenidos para kaempferol y sus análogos sustituidos con los resultados del artículo en el que se analiza la quercetina y la crisina. La comparación se realizó con la intención de observar en qué medida las sustituciones en kaempferol mejoran su capacidad antioxidante comparada con quercetina y crisina.

La mejora de la capacidad antioxidante con la sustitución de los átomos de S y Se de las moléculas puede ser más eficaz para combatir el estrés oxidativo.

## Referencias.

1. Muñoz, L.; Cobos, A.; Díaz, O.; Aguilera, J. Chia Seed (*Salvia hispanica*): An Ancient Grain and a New Functional Food, *Food Reviews International*, **2013**, 29, 394–408.
2. Di Sapia, O.; Bueno, M.; Busilacchi, H.; Severin, C. Chía importante antioxidante vegetal, *Agromensajes*, **2012**, 24, 11-13.
3. Kaur, S.; Bains, K. Chia (*Salvia hispanica* L.) – a rediscovered ancient grain, from Aztecs to food laboratories: A review, *Nutrition & Food Science*, **2019**, 50-3, 463-479.
4. Mohd, N.; Keong, S.; Yong, W.; Kee, B.; Wei, S.; Guan, S. The Promising Future of Chia, *Salvia hispanica* L. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, **2012**, 2012, 1-10.
5. Xingú, A.; González, A.; de la Cruz, E.; Sangerman, D.; Orozco, G.; Rubí, M. Chía (*Salvia hispanica* L.) situación actual y tendencias futuras, *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, **2017**, 8/7, 1619-1631.
6. Capitani, M. Caracterización y funcionalidad de subproductos de Chía (*Salvia hispanica*L.) Aplicación en tecnología de alimentos. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. Departamento de Química. Argentina. **2013**.
7. Alam, W.; Khan, H.; Ajmal, M.; Cauli, O.; Saso, L. Kaempferol as a Dietary Anti-Inflammatory Agent: Current Therapeutic Standing, *Molecules*, **2020**, 25/4073, 1-12.
8. Ashrafizadeh, M.; Tavakol, S.; Ahmadi, Z.; Roomiani, S.; Mohammadinejad, R.; Samarghandian, S. Therapeutic effects of kaempferol affecting autophagy and endoplasmic reticulum stress, *Phytotherapy Research*, **2020**, 34/5, 911-923.
9. Quiñones, M.; Miguel, M.; Aleixandre, A. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular, *Nutrición Hospitalaria*, **2012**, 27/1, 76-89
10. Zhi, Y.; Wu, Z.; Zhao, B. A DFT Study on the Structural and Antioxidant Properties of Three Flavonols, *Food Biophysics*, **2013**, 8, 90-94.
11. Vargas, R.; Martínez, E.; Hernández, J.; Torrescano, G.; Sánchez, A. Effect of physicochemical properties and phenolic compounds of bifloral propolis on antioxidant and antimicrobial capacity, *Nova Scientia Revista de Investigación de la Universidad De La Salle Bajío*, **2020**, 12/1. 1-22.

12. Fallah, A.; Reza, M. Determination of Morin and Quercetin in Fruit Juice Samples using Air-Assisted Liquid-Liquid Microextraction Based on Solidification of Floating Organic Droplet and HPLC-UV, *Acta Chimica Slovenica*, **2020**, *67*, 1092-1099.
13. Thakur, K.; Zhu, Y.; Feng, J.; Zhang, J.; Hu, F.; Prasad, C.; Wei, Z. Morin as an imminent functional food ingredient: an update on its enhanced efficacy in the treatment and prevention of metabolic syndromes, *Food & Function*, **2020**, *11*, 8424- 8443.
14. Wolfe, K.; Liu, R. Structure-Activity Relationships of Flavonoids in the Cellular Antioxidant Activity Assay, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2008**, *56/18*, 8404-8411.
15. Mazzone, G.; Galano, A.; Alvarez-Idaboy, J.; Russo, N. Coumarin–Chalcone Hybrids as Peroxyl Radical Scavengers: Kinetics and Mechanisms, *Journal of Chemical Information and Modeling*, **2016**, *56*, 662-670.
16. Fonseca, S.; Lima, D.; Alves, D.; Jacob, R.; Perin, G.; João, E.; Savegnago, L.; Savegnago, L. Synthesis, characterization and antioxidant activity of organoselenium and organotellurium compounds derivatives of chrysin, *New Journal of Chemistry*, **2015**, *39-4*, 3043-3050.
17. Castañeda, R.; Marino, T.; Russo, N.; Álvarez-Idaboy, J.; Galano, A. Chalcogen Effects on the Primary Antioxidant Activity of Chrysin and Quercetin, *New Journal of Chemistry*, **2020**, *44*, 9073-9082.

### ***III.- Objetivos generales***

Estudiar computacionalmente la capacidad antioxidante primaria de la molécula de kaempferol.

#### *Objetivos particulares*

- Determinar la capacidad antioxidante primaria de la molécula de kaempferol a través del estudio termodinámico con el radical libre  $\bullet\text{OOH}$ .
- Establecer teóricamente las especies más abundantes, a nivel fisiológico, de la molécula de kaempferol y su relación con su capacidad antioxidante, por medio de diagramas de distribución de especies.
- Establecer el efecto de la sustitución del átomo de oxígeno con átomos de otros elementos, como azufre y selenio, en el incremento en la capacidad antioxidante primaria de la molécula de kaempferol.
- Comparar la capacidad antioxidante primaria del flavonoide kaempferol con los flavonoides quercetina y crisina.



## IV.- Metodología

### 1. Marco teórico

Derivado de los resultados de algunos experimentos como la radiación del cuerpo negro, el efecto fotoeléctrico y los espectros de emisión y absorción de los átomos, la mecánica clásica pareció colapsarse a principios del siglo XX. Las ideas vanguardistas de Planck y de De Broglie, entre otros, permitieron establecer una nueva mecánica: la mecánica cuántica. En la mecánica cuántica, todas las propiedades de un sistema se pueden expresar en términos de una función de onda. Aunque la función de onda no tiene un significado físico, su cuadrado indica la probabilidad de encontrar a la partícula en una determinada región del espacio, esta definición es conocida como la densidad de probabilidad.

La resolución de la ecuación de Schrödinger permite obtener toda la información contenida en la función de onda. A continuación, se repasa dicha ecuación y se mencionan algunas de sus particularidades. La ecuación de Schrödinger es una ecuación diferencial de valores propios, que involucra a la función de onda ( $\psi(\mathbf{r})$ ), y su forma independiente del tiempo se expresa como:

$$\hat{H}\psi(\mathbf{r})=E\psi(\mathbf{r}) \quad (1)$$

$\hat{H}$  es el operador hamiltoniano,  $\psi$  la función de onda sobre la cual aplica el operador y  $E$ , la energía. El operador hamiltoniano para un sistema de  $M$  núcleos y  $N$  electrones se expresa como:

$$\hat{H} = -\frac{1}{2} \sum_{i=1}^N \nabla_i^2 - \frac{1}{2} \sum_{A=1}^M \frac{1}{M_A} \nabla_A^2 - \sum_{i=1}^N \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum_{i=1}^{N-1} \sum_{j>i}^N \frac{1}{r_{ij}} + \sum_{A=1}^{M-1} \sum_{B>A}^M \frac{Z_A Z_B}{r_{AB}} \quad (2)$$

$A$  y  $B$  se refieren a los núcleos, mientras que  $i$  y  $j$  a los electrones. De igual forma,  $Z_A$  y  $Z_B$  se refieren a la carga del núcleo. Los dos primeros términos corresponden a la energía cinética de los electrones y de los núcleos, respectivamente; el tercer término se refiere a la interacción atractiva entre núcleos y electrones, y el cuarto y el quinto término, describen la interacción repulsiva que hay entre los electrones y entre los núcleos, respectivamente.

Dado que la aproximación de Born-Oppenheimer considera que la masa de los núcleos es mucho mayor que la de los electrones, la energía cinética de los núcleos es mucho menor que la de los electrones, por lo tanto, los núcleos se pueden considerar estáticos. De esta forma, los términos de energía cinética e interacción de los núcleos pueden omitirse de las ecuaciones (1) y (2). Consecuentemente, se puede expresar un Hamiltoniano electrónico,  $\hat{H}_{el}$ , con solo tres términos:

$$\hat{H}_{el} = -\frac{1}{2} \sum_{i=1}^N \nabla_i^2 - \sum_{i=1}^N \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum_{i=1}^{N-1} \sum_{j>i}^N \frac{1}{r_{ij}} \quad (3)$$

en el que se considera la energía cinética de los electrones, la interacción atractiva entre núcleos y electrones y la interacción repulsiva entre electrones. Así, la ecuación de Schrödinger se puede reescribir como:

$$\hat{H}_{el}\psi(r) = E_{el}\psi(r) \quad (4)$$

Además, se debe considerar que la energía total ( $E$ ) es la suma de la energía electrónica ( $E_{el}$ ) y la energía derivada de la repulsión de núcleos ( $V_{nn}$ ):

$$E = E_{el} + V_{nn} \quad (5)$$

En lugar de usar la función de onda para obtener toda la información posible del sistema, se puede utilizar la densidad electrónica, con la ventaja computacional de que esta depende únicamente de las tres coordenadas del espacio (puesto que la densidad electrónica es una función tridimensional), mientras que la función de onda depende de las coordenadas de cada una de las  $N$  partículas que componen al sistema y de las coordenadas de espín.<sup>1</sup>

### Teoría del Funcional de la Densidad.

Debido a que la ecuación de Schrödinger solo se puede resolver de forma analítica para sistemas mono electrónicos, como el átomo de hidrógeno; para sistemas con dos o más electrones es necesario utilizar métodos aproximados de la función de onda y la energía exacta del estado basal, que se obtiene por medio de un método variacional.<sup>1</sup> Por esta razón se utiliza la Teoría del Funcional de la Densidad (TFD), que permite hacer cálculos de estructura electrónica y en la cual se emplea a la densidad electrónica como variable. La TFD

tuvo sus inicios prácticos en 1964, cuando Pierre Hohenberg y Walter Kohn establecieron los dos teoremas que son la base de la teoría.

El primer teorema de Hohenberg y Kohn establece que para un sistema con  $N$  partículas interactuantes, existe una relación unívoca entre el potencial externo hasta una constante aditiva arbitraria y la densidad electrónica del estado basal. Como la densidad electrónica del estado basal fija el potencial externo y el número de electrones, también establece el Hamiltoniano electrónico y por ende todas las propiedades electrónicas. La energía se trata como un funcional de la densidad, que se expresa como:

$$E_0 = E_0[\rho_0] = T[\rho_0] + V_{ee}[\rho_0] + V_{ne}[\rho_0] \quad (6)$$

donde  $T[\rho_0]$  es el funcional de energía cinética,  $V_{ee}[\rho_0]$  es el funcional de energía interactuante electrón-electrón y  $V_{ne}[\rho_0]$  es el funcional del potencial externo.

El segundo teorema establece que la energía como un funcional de la densidad electrónica es mínima cuando la densidad electrónica que se evalúa para ese funcional es la del estado basal, cualquier otra densidad electrónica tendrá una energía igual o mayor:<sup>2</sup>

$$E_0 = E_0[\rho_0] \leq E[\rho] \quad (7)$$

Fue en 1965 que Walter Kohn y Lu Jeu Sham propusieron una forma exacta de escribir la energía cinética,<sup>1,3</sup> utilizando un sistema de electrones no interactuantes con la misma densidad electrónica que un sistema interactuante y, de esta forma, solo se tiene un término desconocido: la energía de intercambio-correlación ( $E_{xc}[\rho_0]$ ):<sup>1</sup>

$$E_0[\rho_0] = T[\rho_0] + V_{ee}[\rho_0] + V_{ne}[\rho_0] + E_{xc}[\rho_0] \quad (8)$$

El funcional  $E_{xc}[\rho_0]$  se ha aproximado de diferentes formas. Una aproximación son los funcionales GGA (Generalized gradient approximations, Aproximaciones de gradiente generalizadas), como B88 y PBE; los meta-GGA, que dependen de la densidad de energía cinética local, como B88C, B97 y TPSS y, los funcionales híbridos, que incluyen el intercambio de Hartree-Fock, como B3LYP, M05, M05-2X, M06 y M06-2X.<sup>4,5</sup>

## 2. Detalles computacionales

Para este trabajo, todos los cálculos de estructura electrónica se realizaron con el paquete de programas de Gaussian09 y la interfaz gráfica Gaussview5.<sup>6</sup> Para realizar las optimizaciones geométricas y los cálculos de frecuencia se utilizó el funcional M05-2X y la base 6-311+G(d,p).<sup>7-9</sup> Se ha descrito al funcional M05-2X como uno de los mejores funcionales para cálculos termodinámicos en disolución y para calcular las energías de reacción en reacciones que involucran radicales libres.<sup>10,11</sup> Igualmente, en este trabajo se utilizó el funcional M05-2X y la base 6-311+G(d,p), para poder comparar los resultados obtenidos con los del artículo intitulado “Chalcogen Effects on the Primary Antioxidant Activity of Chrysin and Quercetin” de los autores R. Castañeda, T. Marino, N. Russo, J. Álvarez-Idaboy y A. Galano, y publicado en *New Journal of Chemistry*, en el año 2020. Para todas las estructuras optimizadas se analizaron las frecuencias vibracionales verificando que no hubiera ninguna frecuencia imaginaria.<sup>13</sup> Por último, se empleó el modelo de solvatación continua basado en la densidad (SMD) que se utilizó en todos los cálculos, empleando agua y pentiletanoato como disolventes.<sup>14</sup> Ambos disolventes se utilizaron para imitar entornos acuosos y lipídicos, respectivamente.<sup>15</sup> El pentiletanoato se utilizó para las especies neutras de los mecanismos *f*-HAT (*formal Hydrogen Atom Transfer*, transferencia formal de un átomo de hidrógeno) y RAF (*Radical Adduct Formation*, formación de un aducto radical) únicamente, para SET (*Single Electron Transfer*, mecanismo de transferencia de un electrón) y las especies aniónicas se empleó exclusivamente agua debido a que los medios no polares no brindan la solvatación necesaria para estabilizar este tipo de especies.<sup>12</sup>

El funcional M05-2X fue desarrollado por Zhao, Schultz y Truhlar; es un funcional global-híbrido meta-GGA. Este funcional considera la densidad de espín, el gradiente de densidad, la densidad de energía cinética y el intercambio Hartree-Fock (HF) (56%), por lo que se puede denominar como aproximación de gradiente metageneralizado híbrido (meta-GGA híbrido). De acuerdo con Y. Zhao, N. Schultz y D. Truhlar, autores del artículo “Design of Density Functionals by Combining the Method of Constraint Satisfaction with Parametrization for Thermochemistry, Thermochemical Kinetics, and Noncovalent Interaction”, el funcional M05-2X tiene el mejor desempeño para cinética termoquímica, interacciones no covalentes y energías de disociación de enlaces alquilo. La nomenclatura de

M05 proviene de *Minnesota 2005*, mientras que 2X significa que es un funcional de alta no localidad con el doble de la cantidad de intercambio no local, que está parametrizado solo para no metales.<sup>16,17</sup> La energía de intercambio y correlación híbrida se encuentra expresada en la Ecuación 9.<sup>16</sup>

$$E_{XC}^{hyb} = E_X^{HF} + (1 - X/100) (E_X^{DFT} - E_X^{HF}) + E_C^{DFT} \quad (9)$$

donde  $E_X^{HF}$  es la energía de intercambio Hartree-Fock no local, X es el porcentaje de intercambio Hartree-Fock en el funcional híbrido,  $E_X^{DFT}$  es la energía de intercambio DFT local y  $E_C^{DFT}$  es la energía de correlación DFT local.<sup>16</sup>

Para poder realizar el cálculo computacional de manera exitosa, se debe tener una base adecuada. Una base es un conjunto de funciones que se utilizan para expresar los orbitales moleculares.<sup>18</sup> Para realizar los cálculos de las geometrías optimizadas en este trabajo, se utilizó la base 6-311+G(d,p). Esta base es de valencia desdoblada, lo que significa que se aumentó el número de funciones utilizadas para describir la capa de valencia.<sup>13</sup> Es una base de calidad triple zeta. Cabe destacar que en las bases triple zeta se reemplaza cada orbital de la capa de valencia de una base mínima por tres orbitales que difieren en sus exponentes orbitales.<sup>18</sup> Es una base polarizada, esto quiere decir que se añadieron orbitales con mayor momento angular respecto al requerido para el estado basal de cada átomo.<sup>13</sup> Es necesario mencionar que también es una base con funciones difusas, muy útil en el estudio de especies aniónicas.<sup>13</sup>

Para las modificaciones del antioxidante se utilizaron átomos de azufre y selenio. Debido a que los resultados del átomo de selenio se compararon con los obtenidos en el artículo mencionado anteriormente,<sup>12</sup> fue usado el pseudopotencial SDD (*Stuttgart/Dresden pseudopotentials and basis set*, Pseudopotenciales de Stuttgart/Dresden y conjunto de bases). Un pseudopotencial se utiliza para simplificar los cálculos de la estructura electrónica, ya que se consideran los electrones internos y el núcleo como una unidad con una carga específica y los electrones de valencia se tratan por separado.<sup>13</sup> Los pseudopotenciales se utilizan generalmente para la descripción de átomos pesados, elementos a partir del cuarto periodo de la Tabla Periódica, como el selenio, y se caracterizan por separar la descripción electrónica de los átomos en dos partes. Se consideran los electrones internos y el núcleo como una unidad con una carga específica y los electrones de valencia se tratan por separado.

El uso de pseudopotenciales hace más eficientes los cálculos computacionales, ya que se reduce el tamaño de las funciones base.<sup>13</sup>

Para estudiar la capacidad antioxidante de una molécula antioxidante, que se denominará Antiox en este apartado, y sus derivados sustituidos se utilizaron tres mecanismos de acción:

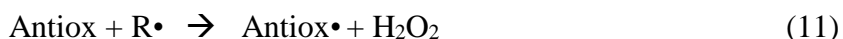
**SET** (*Single Electron Transfer*, mecanismo de transferencia de un electrón): las especies más abundantes de un antioxidante (Antiox) pueden donar un electrón al radical ( $R\bullet$ ) (en este trabajo, el radical libre utilizado fue  $\bullet\text{OOH} = R\bullet$ ), formando los productos anión y el antioxidante radical con su carga correspondiente ( $\text{Antiox}\bullet^+$ ). De esta forma, el radical ( $R\bullet$ ) queda estabilizado, mientras que el antioxidante debe ser un radical libre más estable.<sup>19</sup> A continuación, se presenta el esquema de reacción para el antioxidante siguiendo el mecanismo de transferencia de un electrón:



La determinación de las Energías libres de Gibbs (kcal/mol) para la reacción de la molécula antioxidante con el radical libre se realizó de la siguiente forma:

$$\Delta G = (((\Delta G \text{Antiox}\bullet^+) + (\Delta G R^-)) - ((\Delta G \text{Antiox}) + (\Delta G R\bullet)))$$

**f-HAT** (*formal Hydrogen Atom Transfer*, transferencia formal de un átomo de hidrógeno): cada una de las especies más abundantes del antioxidante puede donar un átomo de hidrógeno enlazado a un oxígeno saturado. Los productos de la reacción son peróxido de hidrógeno,  $\text{H}_2\text{O}_2$ , y un radical antioxidante que debe ser más estable químicamente que  $R\bullet$ .<sup>15,19,20</sup> A continuación, se presenta el esquema tipo de reacción estudiado:

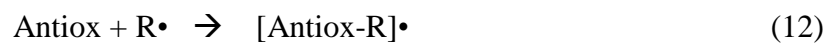


La determinación de las Energías libres de Gibbs (kcal/mol) para la reacción de la molécula antioxidante con el radical libre se realizó de la siguiente forma:

$$\Delta G = (((\Delta G \text{Antiox}\bullet) + (\Delta G \text{H}_2\text{O}_2)) - ((\Delta G \text{Antiox}) + (\Delta G R\bullet)))$$

**RAF** (*Radical Adduct Formation*, formación de un aducto radical): el radical  $R\bullet$  puede unirse a los sitios reactivos del antioxidante, en los que hay mayor densidad electrónica.<sup>21</sup> Al cabo de la reacción, se forma un aducto radical, es decir que se obtiene el producto de la unión

química entre la molécula antioxidante y el radical libre, como se puede observar en la reacción tipo estudiada:



La determinación de las Energías libres de Gibbs (kcal/mol) para la reacción de la molécula antioxidante con el radical libre se realizó de la siguiente forma:

$$\Delta G = ((\Delta G \text{ Antiox-R}) - ((\Delta G \text{ Antiox}) + (\Delta G \text{ R}\cdot)))$$

## Referencias.

1. Vela, A. Logros y perspectivas de la Química Teórica, *Educación Química*, **2016**, *27*, 278-285.
2. Hohenberg, P.; Kohn, W. Inhomogeneous electron gas, *Physical review*, **1964**, *136/3B*, 864-871.
3. Kohn, W.; Sham, L. Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects, *Physical review*, **1965**, *140/4A*, 1133-1138.
4. Cohen, A.; Mori, P.; Yang, W. Challenges for Density Functional Theory, *Chemical Reviews*, **2012**, *112*, 289-320.
5. Verma, P.; Truhlar, D. Status and Challenges of Density Functional Theory, *Trends in Chemistry*, **2020**, *2/4*, 302-318.
6. Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Mennucci, B.; Petersson, G. A.; et al. Gaussian 09, Revision A.08 Gaussian, Inc., Wallingford CT. **2009**.
7. Becke, A. Density-functional thermochemistry. III. The role of exact Exchange, *The Journal of Chemical Physics*, **1993**, *98/7*, 5648-5652.
8. Perdew, J. P.; Wang, Y. Accurate and simple analytic representation of the electron-gas correlation energy, *Physical Review B Covering Condensed Matter and Materials Physics*, **1992**, *45*, 13244.
9. Frisch, M. J.; Pople, J. A.; Binkley, J. S. Self-consistent molecular orbital methods 25. Supplementary functions for Gaussian basis sets, *The Journal of Chemical Physics*, **1984**, *80/7*, 3265-3269.
10. Galano, A.; Alvarez, J. Kinetics of radical-molecule reactions in aqueous solution: A benchmark study of the performance of density functional methods, *Journal of Computational Chemistry*, **2014**, *35/28*, 2019-2026.
11. Mazzone, G.; Galano, A.; Alvarez-Idaboy, J.; Russo, N. Coumarin–Chalcone Hybrids as Peroxyl Radical Scavengers: Kinetics and Mechanisms, *Journal of Chemical Information and Modeling*, **2016**, *56*, 662-670.
12. Castañeda, Arriaga, R.; Marino, T.; Russo, N.; Álvarez-Idaboy, J.; Galano, A. Chalcogen Effects on the Primary Antioxidant Activity of Chrysin and Quercetin, *New Journal of Chemistry*, **2020**, *44*, 9073-9082.



13. Reina, M. **2017**. Estudio teórico de la capacidad para atrapar radicales libres de compuestos con cúmulos metálicos. Tesis de Doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México. Págs. 31, 32, 36.
14. Marenich, A.; Cramer, C.; Truhlar, D. Universal solvation model based on solute electron density and on a continuum model of the solvent defined by the bulk dielectric constant and atomic surface tensions, *The Journal of Physical Chemistry B*, **2009**, *113/18*, 6378-96.
15. Galano, A. Free Radicals Induced Oxidative Stress at a Molecular Level: The Current Status, Challenges and Perspectives of Computational Chemistry Based Protocols, *Journal of the Mexican Chemical Society*, **2015**, *59/4*, 231-262.
16. Zhao, Y.; Schultz, N.; Truhlar, D. Design of Density Functionals by Combining the Method of Constraint Satisfaction with Parametrization for Thermochemistry, Thermochemical Kinetics, and Noncovalent Interactions, *Journal of Chemical Theory and Computation*, **2006**, *2*, 364-382.
17. Zhao, Y.; Schultz, N.; Truhlar, D. Exchange-correlation functional with broad accuracy for metallic and nonmetallic compounds, kinetics and noncovalent interactions, *The Journal of Chemical Physics*, **2005**, *123*, 1-5.
18. Levine, I. *Química Cuántica*, Prentice Hall, Madrid, **2001**, Págs. 467, 473, 475, 533, 554, 566, 567.
19. Belcastro, M.; Marino, T.; Russo, N.; Toscano, M. Structural and electronic characterization of antioxidants from marine organisms, *Theoretical Chemistry Accounts*, **2006**, *115*, 361-369.
20. Zapata, S.; Piedrahita, A.; Rojano, B. Capacidad atrapadora de radicales oxígeno (ORAC) y fenoles totales de frutas y hortalizas de Colombia, *Perspectivas en Nutrición Humana*, **2014**, *16/1*, 25-36.
21. Sernaqué, C.; Calvo, L.; Pumachagua, R. Estudio de la reactividad en moléculas fenólicas mediante la función de Fukui, *Revista de la Sociedad Química del Perú*, **2014**, *80/2*, 97-107.

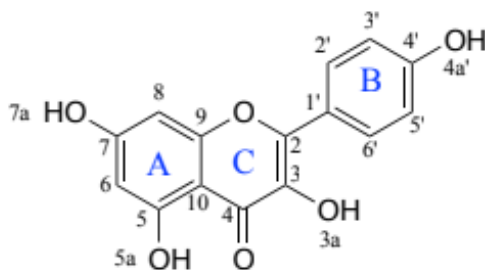
## V.- Resultados y discusión

### 1. Estudio de la capacidad antioxidante de kaempferol

En este apartado se presenta la optimización de la molécula de kaempferol, sus constantes ácidas y su capacidad antioxidante primaria.

#### 1.1 Optimización de la molécula de kaempferol

En el Esquema 1 se presenta la molécula de kaempferol (Kmp). La molécula consta de tres anillos, dos anillos aromáticos, A y B, ligados a través de un anillo C de pirano.<sup>1</sup> Tiene cuatro grupos hidroxilo, por lo que se puede esperar que haya hasta cuatro pKa en disolución acuosa. La molécula tiene un grupo ceto en el carbono 4. En este grupo se pueden hacer sustituciones por átomos de otros elementos que podrían ayudar a mejorar la capacidad antioxidante de la molécula.



Esquema 1. Estructura molecular del kaempferol.

En la Figura 1 se presenta la geometría optimizada de la molécula de kaempferol (Kmp), con las distancias de los puentes de hidrógeno intramoleculares obtenidos y que tienden a estabilizar a la molécula.<sup>2</sup> Se puede observar que coinciden con las distancias esperadas para interacciones de este tipo (1.5-2.3 Å). La molécula tiene tres anillos, de los cuales A y C son planos, mientras que el anillo B se encuentra fuera del plano (ángulo diedro 3-2-1'-6' en el Esquema 1 e igual a 32°). El ángulo diedro 3-2-1'-6' entre el anillo C y B resulta en que la molécula sea ligeramente menos estable.<sup>3</sup>

Pese a que la molécula de kaempferol no es completamente plana, mantiene una deslocalización electrónica muy eficiente, ya que sigue siendo un sistema altamente

deslocalizado, como ocurre con la quercetina, la galangina y otros compuestos fenólicos de este tipo.<sup>4,5</sup> Debido a los grupos fenólicos presentes en la molécula se favorece la estabilización de los radicales libres, aumentando la capacidad antioxidante de la molécula.<sup>4,5,6</sup>

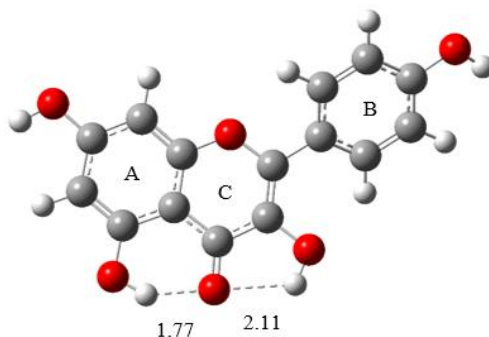


Figura 1. Geometría optimizada de kaempferol (Kmp).

## 1.2 Constantes ácidas de kaempferol

Para conocer la capacidad antioxidante de una molécula, es necesario realizar un estudio de la abundancia relativa de sus especies a pH fisiológico. Por esta razón se calcularon los pKa del kaempferol. Los valores de pKa encontrados computacionalmente se encuentran en la Tabla 1. Estos valores obtenidos tienen similitud con los valores encontrados en la literatura.<sup>7</sup> Además, la técnica computacional empleada produjo buenos resultados, porque los porcentajes de error obtenidos fueron, 4.5 para el pKa<sub>1</sub>, 2.1 para el pKa<sub>2</sub>, 9.2 para el pKa<sub>3</sub> y 4.7 para el pKa<sub>4</sub>. Para la determinación del tercer valor de pKa, el porcentaje de error es considerablemente mayor que para el resto, sin embargo está dentro de los rangos reportados como adecuados.<sup>7</sup> Como se puede observar, las especies más abundantes a pH fisiológico (pH=7.4) y que, por lo tanto, son susceptibles de presentar capacidad antioxidante son las especies neutra (Kmp, 51%), desprotonada (Kmp<sup>-</sup>, 47.5%) y doblemente desprotonada (Kmp<sup>2-</sup>, 1.5%).

Tabla 1. Constantes ácidas (expresadas como valores de pKa) para las especies de kaempferol y las fracciones molares ( $M_f$ ) de las especies neutras, monoaniónicas, dianiónicas, trianiónicas y tetraaniónicas a pH = 7.4. Además, en la tabla se presentan los porcentajes de error de los resultados obtenidos computacionalmente comparados con aquellos reportados.

	pKa <sub>1</sub>	pKa <sub>2</sub>	pKa <sub>3</sub>	pKa <sub>4</sub>	$M_f$ Kmp	$M_f$ Kmp <sup>-</sup>	$M_f$ Kmp <sup>2-</sup>	$M_f$ Kmp <sup>3-</sup>	$M_f$ Kmp <sup>4-</sup>
Valores computacionales	7.43	8.90	10.29	12.64	0.510	0.475	0.015	1.94x10 <sup>-5</sup>	1.12x10 <sup>-10</sup>
Valores reportados	7.11	9.09	11.33	13.26	0.334	0.652	0.013	1.57x10 <sup>-6</sup>	2.16x10 <sup>-12</sup>
% Error									
	4.5	2.1	9.2	4.7					

Derivados de los valores de pKa encontrados, se realizaron y estudiaron los diagramas de distribución de especies, cuyos resultados se encuentran en la Figura 2. Estos diagramas son recursos útiles para conocer visualmente qué especies de la molécula antioxidante están presentes a determinado pH. Se seleccionó pH=7.4, pues el interés de este trabajo es observar cuáles son las especies que pueden tener una abundancia significativa y, por lo tanto, presentar capacidad antioxidante, a pH fisiológico.

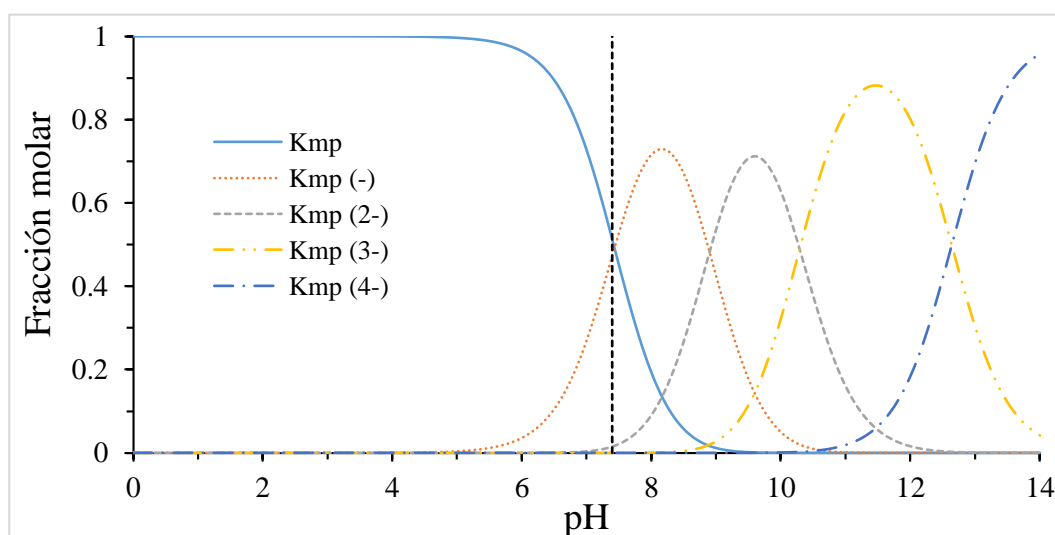


Figura 2. Diagrama de distribución de especies de kaempferol, construido a partir de los valores de pKa reportados en la Tabla 1.

La ruta de desprotonación del kaempferol se encuentra en la Figura 3. Como se observa, el protón más ácido es el de la posición 7a, después el de la posición 4a', seguido del de la

posición 3a y por último, el que se encuentra en la posición 5a. En la Figura 3 también se indican los valores de los pKa que corresponden a los ya reportados en la Tabla 1.

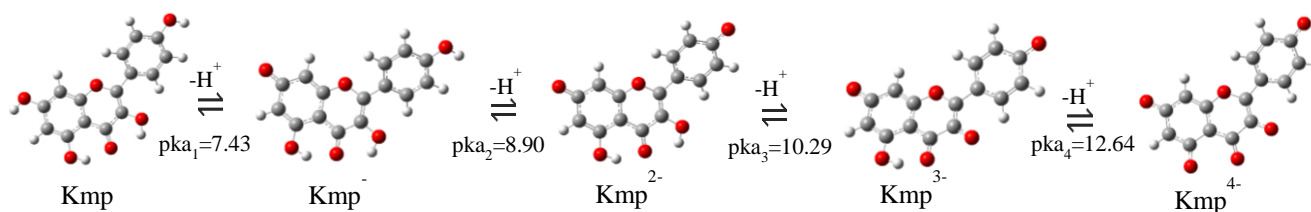
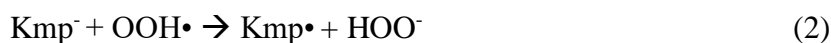


Figura 3. Ruta de desprotonación de la molécula kaempferol.

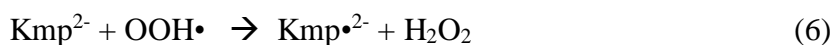
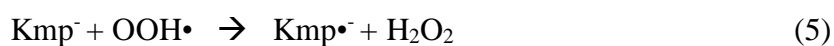
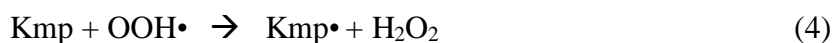
### 1.3 Capacidad antioxidante primaria de kaempferol

El Esquema 1 de este capítulo presenta numerada la molécula de kaempferol y muestra los sitios de estudio para los mecanismos *f*-HAT y RAF. Para el mecanismo *f*-HAT se probaron las posiciones 7a, 4a', 3a y 5a. Por otro lado, para el mecanismo RAF se analizaron las posiciones 2 a 6', ya que para que este mecanismo ocurra se requiere la presencia de enlaces múltiples.<sup>8,9</sup> Para evaluar la capacidad antioxidante del kaempferol se estudiaron los tres mecanismos de acción, ya descritos en la metodología. Por una cuestión de claridad, se vuelven a mencionar en este apartado. En los esquemas de reacción se toman en cuenta las especies de kaempferol que se estudiaron.

**SET** (*Single Electron Transfer*, mecanismo de transferencia de un electrón): Las especies más abundantes del antioxidante kaempferol (Kmp, Kmp<sup>-</sup> y Kmp<sup>2-</sup>) pueden donar un electrón al radical hidroperoxilo ( $\bullet\text{OOH}$ ), formando los productos anión hidroperoxilo y el antioxidante radical con su carga correspondiente (Kmp $\bullet^+$ , Kmp $\bullet$  y Kmp $\bullet^-$ , respectivamente). De esta forma, el radical hidroperoxilo queda estabilizado, mientras que el antioxidante pasa a ser un radical libre, pero, por su estructura, el electrón desapareado no implica una alta reactividad, ya que se encuentra deslocalizado en la molécula.<sup>6,10,11</sup> A continuación, se presentan los esquemas de reacción para la molécula de kaempferol siguiendo el mecanismo de transferencia de un electrón:



**f-HAT** (*formal Hydrogen Atom Transfer*, transferencia formal de un átomo de hidrógeno): Cada una de las tres especies más abundantes de kaempferol puede donar un átomo de hidrógeno enlazado a un oxígeno saturado, al radical libre  $\bullet\text{OOH}$ . Estos sitios corresponden a las posiciones 7a, 4a', 3a y 5a ilustradas en el Esquema 1. Los productos de la reacción son peróxido de hidrógeno,  $\text{H}_2\text{O}_2$ , y un radical antioxidante que debe ser más estable químicamente que  $\bullet\text{OOH}$ .<sup>8,12,13</sup> A continuación, se presentan los esquemas tipo de reacción estudiados:



**RAF** (*Radical Adduct Formation*, formación de un aducto radical): El radical  $\bullet\text{OOH}$  puede unirse a los sitios reactivos de la molécula, en los que hay mayor densidad electrónica,<sup>14</sup> que corresponden a las posiciones 2 a 6' de la molécula de kaempferol, como se puede observar en el Esquema 1. Al cabo de la reacción, se forma un aducto radical (Figura 4), es decir que se obtiene el producto de la unión química entre la molécula antioxidante y el radical libre, como se puede observar en las reacciones tipo estudiadas:

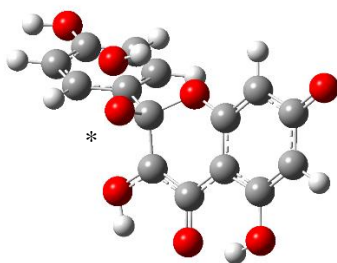


Figura 4. Formación de aducto radical en la posición 2 de la especie  $\text{Kmp}^-$ , ilustrado con un asterisco.

Se empleó el modelo de solvatación continúa basado en la densidad (SMD) que se utilizó en todos los cálculos, empleando agua y pentiletaonato como disolventes.<sup>15</sup> Ambos disolventes se utilizaron para imitar entornos acuosos y lipídicos, respectivamente.<sup>8</sup> El pentiletanoato se utilizó para las especies neutras de los mecanismos *f*-HAT y RAF únicamente, para SET y las especies aniónicas se excluyó debido a que los medios no polares no brindan la solvatación necesaria para estabilizar este tipo de especies.<sup>16</sup>

Los resultados de la capacidad antioxidante de la molécula de kaempferol se presentan en la Tabla 2, misma que a continuación se discute. Las posiciones marcadas con ---- son posiciones que ya no se estudiaron, debido a que ya no había átomos de hidrógeno para emplear el mecanismo HAT y en el caso de SET porque no se empleó el medio lipídico para ese mecanismo.

Tabla 2. Energías libres de Gibbs (kcal/mol) para la reacción de la molécula de kaempferol con •OOH a 298.15 K.

	Kmp	Kmp <sup>-</sup>	Kmp <sup>2-</sup>	Kmp Líp.
SET	25.22	14.11	0.48	----
<i>f</i> -HAT-7a	6.95	----	----	5.56
<i>f</i> -HAT-4a'	0.09	-2.00	----	-1.08
<i>f</i> -HAT-3a	-4.49	-7.32	-13.87	-3.82
<i>f</i> -HAT-5a	6.51	5.39	1.58	10.58
RAF- 2	1.16	-0.67	0.46	3.81
RAF-3	8.71	5.99	5.49	10.30
RAF-4	22.35	25.76	12.78	6.23
RAF-5	17.39	18.29	0.03	20.83
RAF-6	20.59	13.95	15.34	21.51
RAF-7	6.54	26.86	24.88	6.18
RAF-8	19.48	16.41	15.54	21.82
RAF-9	22.54	20.85	21.12	6.24
RAF-10	33.13	7.91	7.94	5.26
RAF-1'	23.27	23.47	20.85	27.56
RAF-2'	18.49	17.81	19.37	23.04
RAF-3'	19.57	19.91	18.82	22.01
RAF-4'	14.65	13.66	15.77	15.59
RAF-5'	20.86	20.78	12.84	21.47
RAF-6'	19.43	17.35	18.92	19.49

Para el mecanismo de transferencia electrónica, ninguna de las especies de kaempferol estudiada es capaz de ceder un electrón para estabilizar al radical libre  $\bullet\text{OOH}$ . Como se observa en la Tabla 2, las tres especies del antioxidante ( $\text{Kmp}$ ,  $\text{Kmp}^-$  y  $\text{Kmp}^{2-}$ ) llevan a cabo reacciones endergónicas, y por lo tanto la formación de productos no está favorecida termodinámicamente.<sup>17,18</sup> Por esta razón, el mecanismo de transferencia electrónica no se considera viable para la estabilización del  $\bullet\text{OOH}$ .

Dado que el mecanismo de transferencia electrónica no es viable, el estudio de la capacidad para ceder un átomo de hidrógeno de la molécula de kaempferol es clave para analizar la capacidad antioxidante y la estabilización de radicales libres. Por este motivo, se estudió la labilidad de los átomos de hidrógeno de kaempferol, más precisamente aquellos localizados en las posiciones 7a, 4a', 3a y 5a, que se pueden observar en el Esquema 1. En la Figura 5, se presenta la geometría optimizada de la molécula de kaempferol, sin el átomo de hidrógeno en posición 4a'. Como se observa en la Tabla 2, las tres especies más abundantes de kaempferol a  $\text{pH}=7.4$  pueden ceder algunos de sus átomos de hidrógeno y estabilizar al  $\bullet\text{OOH}$ , formando  $\text{H}_2\text{O}_2$ . La vía *f*-HAT-3a para todas las especies, la *f*-HAT-4a' para la especie  $\text{Kmp}^-$  (-2.00 kcal/mol) y la especie  $\text{Kmp}$  (-1.08 kcal/mol) en medio lipídico son reacciones exérgicas. Esto indica que los productos de la reacción son más estables termodinámicamente que los reactivos, y por lo tanto son vías posibles para la estabilización del  $\bullet\text{OOH}$ .

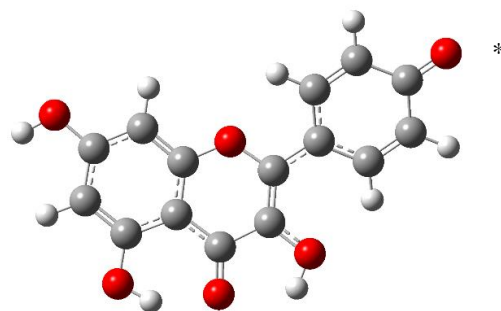


Figura 5. Geometría optimizada de  $\text{Kmp}$  obtenida después de la pérdida del átomo de hidrógeno de la posición 4a', indicado con un asterisco (\*).

Por otro lado, para el mecanismo de formación del aducto radical, el radical  $\bullet\text{OOH}$  se enlaza a uno de los sitios reactivos del kaempferol formando un aducto. Se consideraron a los carbonos insaturados del kaempferol (posiciones 2 a la 6', Esquema 1) como los sitios más viables para estudiar este mecanismo, ya que son las posiciones en las que se encuentran los



dobles enlaces de los anillos aromáticos.<sup>8,9</sup> Se puede observar en la Tabla 2 que solo un aducto está favorecido termodinámicamente, pues corresponde a una reacción exérgica; más precisamente a la que se lleva a cabo entre el carbono en posición 2 (RAF-2) de la especie  $\text{Kmp}^-$  y el radical libre (-0.67 kcal/mol). Para este mecanismo, las reacciones de los demás sitios de las tres especies en medio acuoso y las reacciones de la especie neutra en medio lipídico no se encuentran favorecidas termodinámicamente, ya que corresponden a reacciones endérgicas y, por lo tanto, inviables.

Cabe mencionar que para el mecanismo RAF, se hizo un análisis de la estructura del antioxidante para favorecer la formación de puentes de hidrógeno entre el átomo de H del  $\bullet\text{OOH}$  y los átomos de O de la molécula de kaempferol. El objetivo de este estudio fue encontrar sistemas más estables y, analizar la importancia de la formación de puentes de hidrógeno para este mecanismo. En la Tabla 3 se presentan los resultados obtenidos.

Tabla 3. Comparación de las energías libres de Gibbs (kcal/mol) del kaempferol con  $\bullet\text{OOH}$  a 298.15 K para la formación de puentes de hidrógeno.

	Sin puentes de hidrógeno		Con puentes de hidrógeno	
	Kmp(-)	Kmp líp.	Kmp(-)	Kmp líp.
RAF-6	13.95	21.51	<b>15.90</b>	<b>22.96</b>
RAF-8	16.41	21.82	16.41	<b>21.90</b>
RAF-4'	13.66	15.59	13.66	<b>18.47</b>
RAF-6'	17.35	19.49	<b>19.23</b>	19.49

Los análisis estructurales se realizaron para las posiciones donde se consideró que se podían formar puentes de hidrógeno. Se modificaron las posiciones de los átomos de hidrógeno del radical  $\bullet\text{OOH}$  para llevar a cabo la optimización del aducto radical. Como se puede observar en la Tabla 3, solo hubo diferencias en las energías libres de Gibbs obtenidas para las reacciones en la posición 6 para la especie  $\text{Kmp}^-$  (15.90 kcal/mol) y Kmp (22.96 kcal/mol) en medio lipídico, en las posiciones 8 y 4' para la especie neutra en medio lipídico (21.90 kcal/mol y 18.47 kcal/mol, respectivamente) y, en la posición 6' para  $\text{Kmp}^-$  (19.23 kcal/mol).

Para ninguna de las posiciones ilustradas en la Tabla 3 se formó el aducto radical, ya que todas las reacciones resultaron ser más endérgicas que las analizadas originalmente, a pesar

de que sí hubo formación de puentes de hidrógeno para las posiciones 6 y 6' de la especie desprotonada, como se puede observar en la Figura 6.

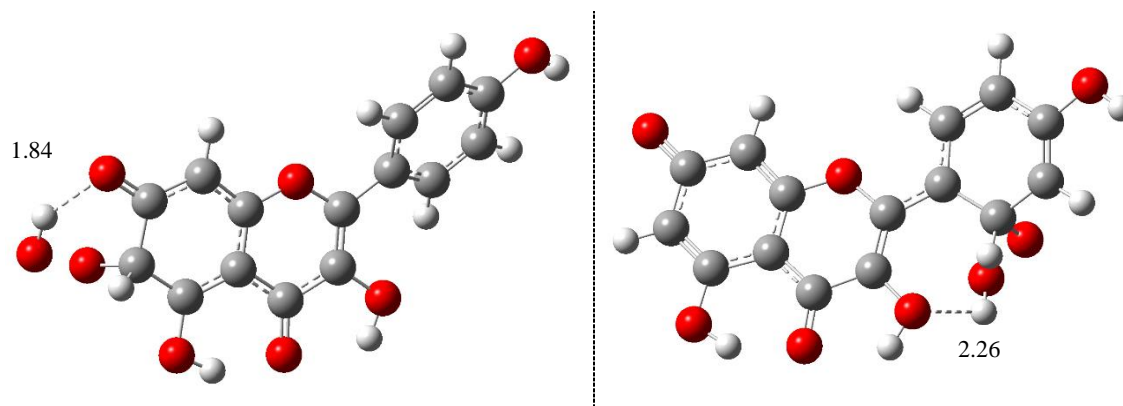


Figura 6. Formación de puente de hidrógeno entre  $\bullet\text{OOH}$  y  $\text{Kmp}^{\bullet-}$ , sin formación de aducto estable en los sitios RAF-6 y RAF-6', respectivamente.

Esto quiere decir que a pesar de tomar en cuenta los puentes de hidrógeno, para el caso del estudio de la molécula de kaempferol, estos no favorecen la formación de aductos radicales más estables.

En la Figura 7, se pueden analizar los tres mecanismos estudiados y las posiciones más favorecidas termodinámicamente para cada caso. Con base en esta gráfica, se puede analizar fácilmente que el mecanismo más eficiente para la estabilización del radical libre  $\bullet\text{OOH}$  es el mecanismo de transferencia formal de un átomo de hidrógeno ( $f$ -HAT) en la posición 3a, para todas las especies en ambos medios, seguido por el de la formación del aducto radical (RAF) para la especie  $\text{Kmp}^{\bullet-}$  en la posición 2. El mecanismo SET no es viable para ninguna de las especies de kaempferol estudiadas. De igual forma, se puede observar que el empleo del agua y el pentiletanoato no ofrece diferencias significativas en los resultados encontrados, ya que el pentiletanoato solo favorece una reacción exergónica más; en la vía  $f$ -HAT-4a' (-1.08 kcal/mol). Los resultados de las demás reacciones modeladas en este medio son similares a las producidas en el medio acuoso.

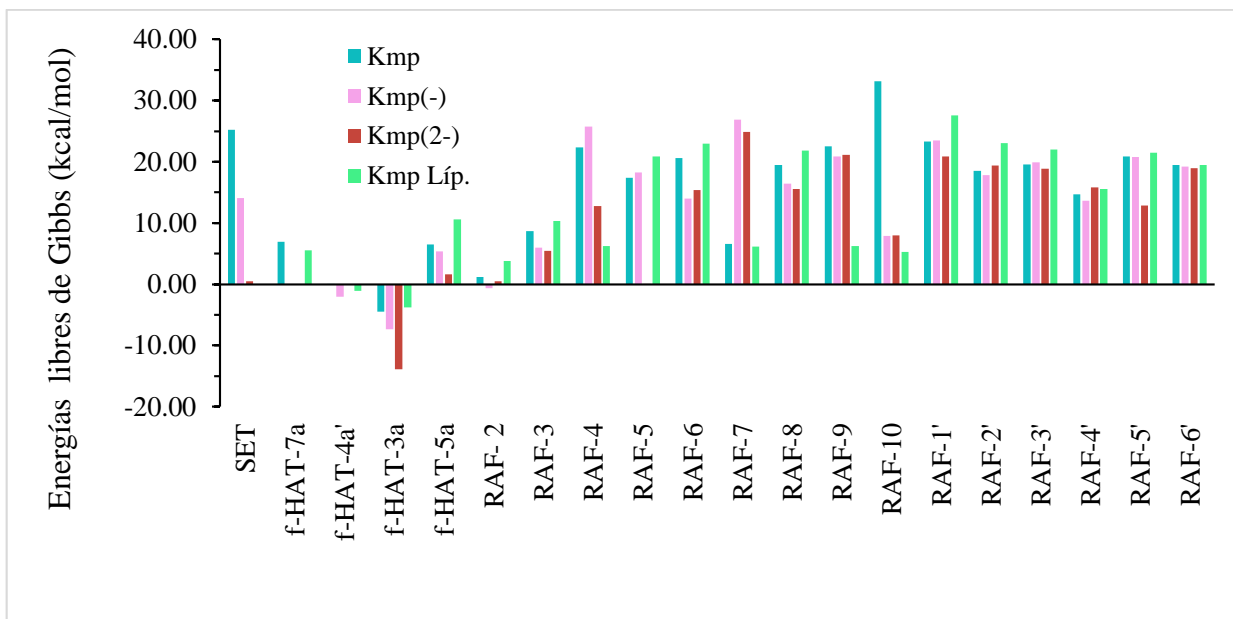


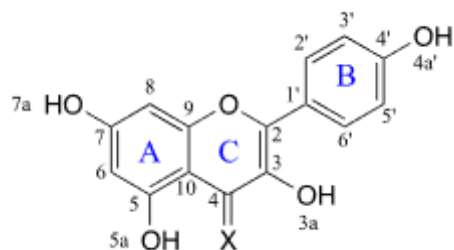
Figura 7. Energías libres de Gibbs (kcal/mol) del kaempferol con •OOH a 298,15 K (Líp= pentiletanoato).

## 2. Efecto calcógeno en la posición 4 de la molécula de kaempferol

En este apartado se presentan los resultados de la optimización de la geometría de la molécula de kaempferol con la sustitución de un átomo de azufre y de selenio en la posición 4, las constantes ácidas de las moléculas sustituidas y la capacidad antioxidante primaria resultante.

### 2.1 Optimización de las moléculas sustituidas con un átomo de S y Se en la posición 4

Se ha encontrado evidencia de que la modificación de las moléculas polifenólicas puede potenciar su capacidad antioxidante.<sup>16,19</sup> Para el caso de la molécula de kaempferol, esta modificación se llevó a cabo sustituyendo el oxígeno de la posición 4 con átomos de otros elementos, como azufre y selenio.<sup>16,19</sup> La estructura molecular se presenta en el Esquema 2.



X=S, Se

Esquema 2. Estructura molecular del kaempferol mostrando el sitio de sustitución (X).

De la misma forma que se realizó la optimización de la molécula de kaempferol, se llevó a cabo la optimización de las moléculas con su correspondiente sustitución. En la Figura 8, se presentan las geometrías optimizadas de las moléculas análogas al kaempferol con la sustitución de oxígeno por azufre y selenio en la posición 4. Además, se muestran las interacciones estabilizantes formadas entre los átomos de azufre y selenio, según convenga y, los átomos de hidrógeno de las posiciones 3a y 5a.

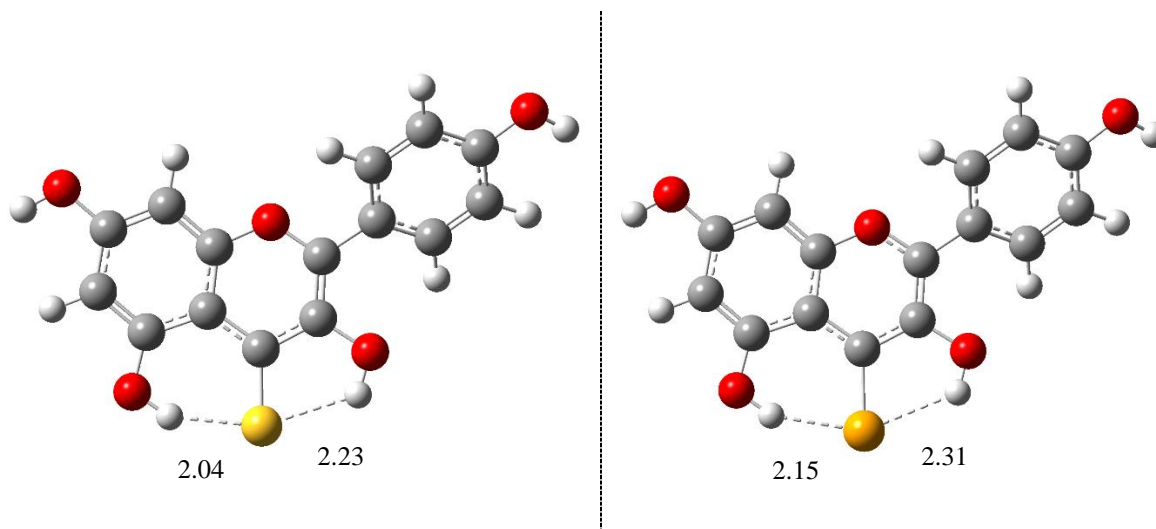


Figura 8. Geometría optimizada de kaempferol con sus análogos de S y Se, respectivamente, con los puentes de hidrógeno que corresponden a 2.04 y 2.23 Å y 2.15 y 2.31 Å para los átomos de S y Se, según corresponda.

## 2.2 Constantes ácidas de las moléculas sustituidas

Se calcularon los pKa de las moléculas sustituidas, estos valores, así como las fracciones molares de las especies a pH fisiológico de estas moléculas se presentan en la Tabla 4. Debido a que no se han reportado valores en la literatura para estas especies, se consideran

únicamente los valores obtenidos computacionalmente. Como se puede observar, las especies más abundantes y que, por lo tanto, son susceptibles de presentar capacidad antioxidante son las especies neutras (KmpS y KmpSe), desprotonadas (KmpS<sup>-</sup> y KmpSe<sup>-</sup>) y doblemente desprotonadas (KmpS<sup>2-</sup> y KmpSe<sup>2-</sup>).

Tabla 4. Constantes ácidas (expresadas como valores de pKa) para las especies de las moléculas sustituidas con átomos de azufre y selenio calculadas en este trabajo y las fracciones molares (<sup>Mf</sup>) de las especies a pH = 7.4.

	pKa <sub>1</sub>	pKa <sub>2</sub>	pKa <sub>3</sub>	pKa <sub>4</sub>	<sup>Mf</sup> Kmp	<sup>Mf</sup> Kmp <sup>-</sup>	<sup>Mf</sup> Kmp <sup>2-</sup>	<sup>Mf</sup> Kmp <sup>3-</sup>	<sup>Mf</sup> Kmp <sup>4-</sup>
Kmp	7.43	8.90	10.29	12.64	0.510	0.475	0.015	1.94x10 <sup>-5</sup>	1.12x10 <sup>-10</sup>
KmpS	7.11	8.65	10.84	14.76	0.327	0.637	0.036	1.30x10 <sup>-5</sup>	5.68x10 <sup>-13</sup>
KmpSe	6.54	8.47	10.40	12.73	0.113	0.817	0.069	6.95x10 <sup>-5</sup>	3.25x10 <sup>-10</sup>

Además, se realizaron y estudiaron los diagramas de distribución de especies para las moléculas sustituidas con átomos de azufre (tiocarbonilo) y selenio (selenocarbonilo), cuyos resultados se encuentran ilustrados en la Figura 9 y 10, respectivamente.

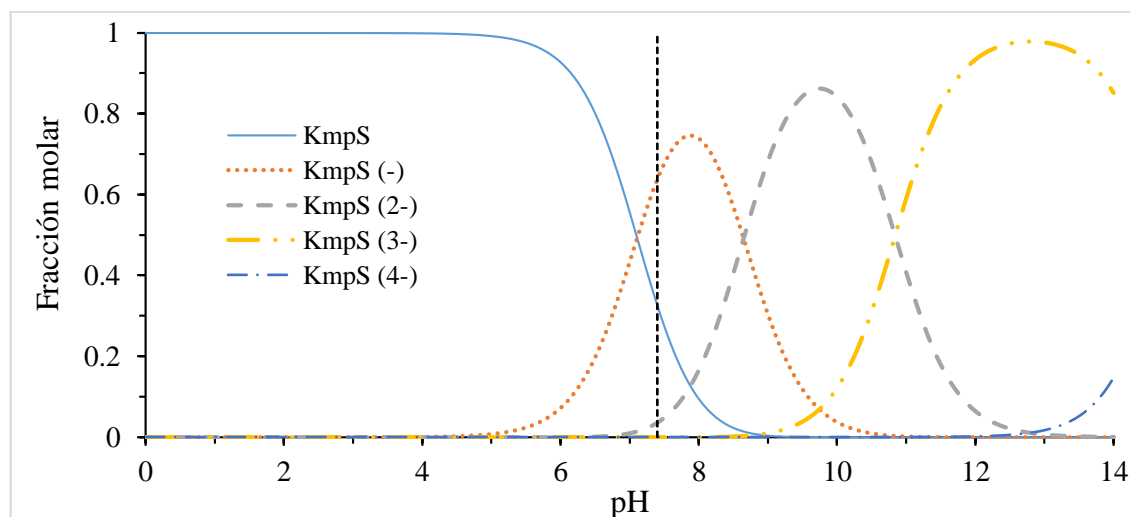


Figura 9. Diagrama de distribución de especies de kaempferol con un grupo tiocarbonilo, construido a partir de los valores de pKa reportados en la Tabla 4.

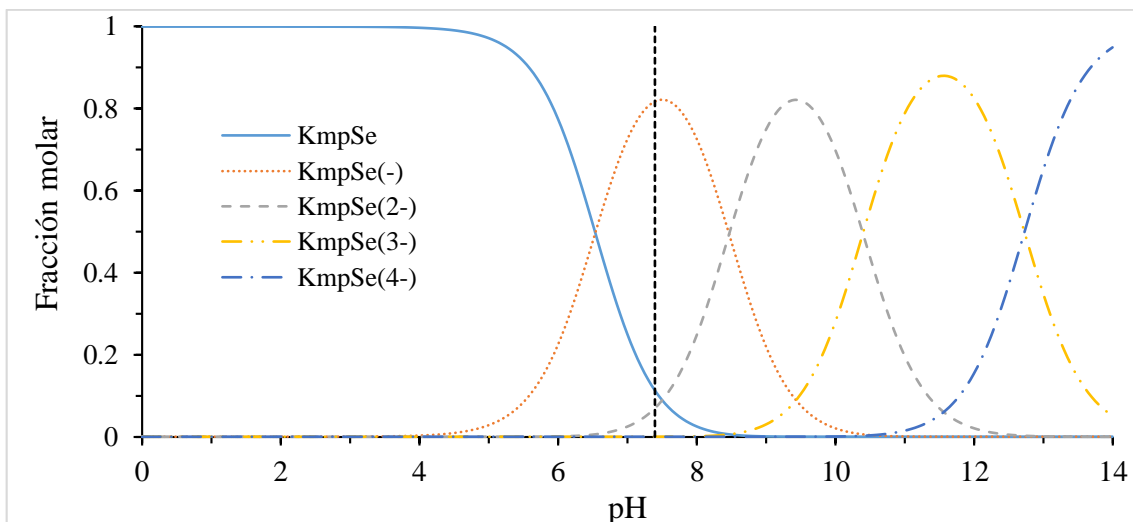


Figura 10. Diagrama de distribución de especies de kaempferol con un grupo selenocarbonilo, construido a partir de los valores de pKa reportados en la Tabla 4.

De la misma manera que ocurrió con el kaempferol, a  $\text{pH}=7.4$  se encontró que las especies más abundantes, tanto para la molécula sustituida con un átomo de azufre como para la molécula sustituida con un átomo de selenio, son la neutra ( $\text{KmpS}$  y  $\text{KmpSe}$ ), la desprotonada ( $\text{KmpS}^-$  y  $\text{KmpSe}^-$ ) y la doblemente desprotonada ( $\text{KmpS}^{2-}$  y  $\text{KmpSe}^{2-}$ ). Por lo tanto, estas especies se seleccionaron para llevar a cabo el estudio de su capacidad antioxidante primaria. La ruta de desprotonación del kaempferol sustituido con un átomo de azufre y de selenio se observa en las Figuras 11 y 12. Como se puede observar el protón más ácido es el de la posición 7a, después el de la posición 4a', seguido por la posición 3a y por último la posición 5a.

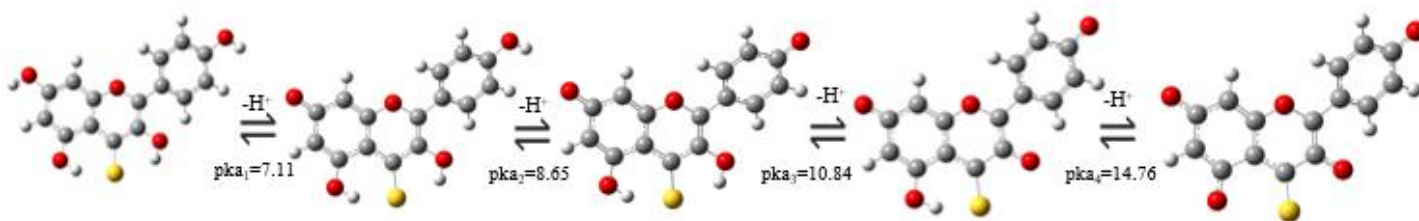


Figura 11. Ruta de desprotonación de la molécula kaempferol sustituida con un grupo tiocarbonilo.

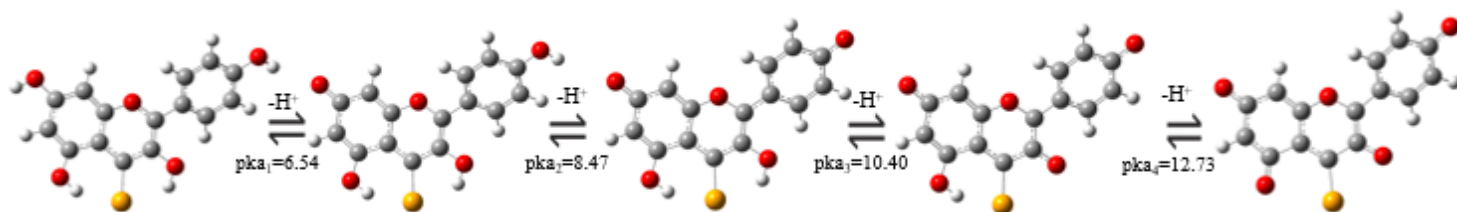


Figura 12. Ruta de desprotonación de la molécula kaempferol sustituida con un grupo selenocarbonilo.

Cabe destacar que el orden de desprotonación es el mismo para las tres moléculas (Kmp, KmpS y KmpSe) y, de igual forma, los pKa de las tres moléculas son muy similares. Esto se debe a que la sustitución con átomos de oxígeno, azufre y selenio no afecta la acidez de los protones fenólicos.<sup>20</sup>

Sin embargo, es llamativa la diferencia de dos unidades de pKa para el pKa<sub>4</sub>, la última desprotonación de la molécula con un grupo tiocarbonilo. Esta diferencia se debe a la geometría de las moléculas. Como se puede observar en la Tabla 5, el anillo C de las tres moléculas se encuentra fuera del plano, lo que ocasiona una mayor distorsión y, por lo tanto, que la deslocalización electrónica sea menos eficiente.<sup>21</sup> Debido a que la geometría más distorsionada es la de la base conjugada con tiocarbonilo, la capacidad que tiene el sistema para estabilizar la carga extra es menor<sup>21</sup> y, consecuentemente, el sistema es menos estable. Por este motivo, el último pKa de la molécula que contiene el átomo de azufre, tiene un valor mayor comparado con el kaempferol y su análogo con selenio, como se presenta en la Tabla 5. Esta distorsión también ocasiona el aumento del último pKa para la molécula de quercetina con sustitución de azufre en la posición 5a, por ejemplo.<sup>16</sup>

Tabla 5. Comparación del ángulo diedro (3-2-1'-6') para la molécula desprotonada de kaempferol y sus análogos sustituidos.

	pKa <sub>4</sub>	Ángulo diedro (3-2-1'-6')
Kmp <sup>4-</sup>	12.64	25°
KmpS <sup>4-</sup>	14.76	33°
KmpSe <sup>4-</sup>	12.73	30°

### 2.3 Capacidad antioxidante de kaempferol con grupos tio y selenocarbonilo en la posición 4

Los resultados de la sustitución con átomos de azufre y de selenio en la molécula de kaempferol se encuentran en la Tabla 6. Como se puede observar, el mecanismo SET no es viable para la estabilización de los radicales, debido a que las tres especies de las dos moléculas análogas producen reacciones endergónicas.

Tabla 6. Energías libres de Gibbs (kcal/mol) del kaempferol sustituidas con átomos de azufre y de selenio y  $\bullet\text{OOH}$  a 298.15 K.

	KmpS	KmpS(-)	KmpS(2-)	KmpS líp.	KmpSe	KmpSe (-)	KmpSe (2-)	KmpSe líp.
SET	25.59	14.6	1.20	---	22.95	14.78	1.84	---
<i>f</i> -HAT-7a	6.46	---	---	5.19	6.24	---	---	4.93
<i>f</i> -HAT-4a'	1.11	-3.31	---	-1.13	1.17	-2.01	---	-0.51
<i>f</i> -HAT-3a	-4.11	-6.93	-11.78	-3.19	-3.15	-6.53	-12.32	-2.32
<i>f</i> -HAT-5a	6.73	7.51	7.21	8.5	-1.69	0.78	0.92	2.20
RAF- 2	-3.02	-4.09	-2.75	-0.19	-4.58	-5.66	-2.76	-1.99
RAF-3	10.08	7.08	7.32	13.21	12.44	9.33	9.32	14.11
RAF-4	19.69	14.09	11.61	23.81	8.80	10.51	13.20	12.29
RAF-5	15.15	16.31	16.76	21.21	15.01	15.14	16.06	18.39
RAF-6	17.18	9.24	13.91	20.75	17.63	7.16	10.77	20.88
RAF-7	20.16	26.22	22.37	23.73	19.56	26.47	22.53	23.34
RAF-8	16.56	15.58	16.27	21.92	18.21	14.00	16.48	22.11
RAF-9	22.99	20.76	21.35	4.69	23.04	17.41	18.44	24.99
RAF-10	6.56	21.26	5.56	6.39	31.68	19.12	18.08	5.98
RAF-1'	23.95	23.79	5.14	28.17	6.87	24.52	7.03	27.98
RAF-2'	18.52	17.89	18.72	20.15	19.20	18.53	19.60	20.08
RAF-3'	18.15	18.19	13.86	22.04	19.13	19.86	14.61	22.56
RAF-4'	13.49	11.82	15.63	15.72	13.44	13.52	16.13	15.58
RAF-5'	18.88	18.20	14.19	21.43	18.40	19.87	13.07	22.29
RAF-6'	16.43	17.77	18.34	18.72	17.64	16.32	20.07	18.95



En lo que respecta al mecanismo *f*-HAT, y en particular la molécula con un grupo tiocarbonilo, se observó un comportamiento similar a la molécula de kaempferol, ya que solamente la vía *f*-HAT-3a para todas las especies y la vía *f*-HAT-4a' para la especie KmpS<sup>-</sup> (-3.31 kcal/mol) y la KmpS (-1.13 kcal/mol) en medio lipídico, produjeron reacciones exergónicas. Con base en lo anterior, solo las vías *f*-HAT-3a y *f*-HAT-4a', son viables para la estabilización del radical libre •OOH. Para el caso del análogo con selenio se observan diferencias considerables en todas las especies, ya que como se puede ver en la Tabla 6, las tres especies más abundantes de kaempferol sustituido con selenocarbonilo pueden transferir algunos de los átomos de hidrógeno y, estabilizar al •OOH. Las vías *f*-HAT-3a para todas las especies, la *f*-HAT-4a' para la especie KmpSe<sup>-</sup> (-2.01 kcal/mol) y la KmpSe (-0.51 kcal/mol) en medio lipídico y la *f*-HAT-5a para la KmpSe (-1.69 kcal/mol) son reacciones exergónicas y, por lo tanto, vías posibles para la estabilización del •OOH. Hay una diferencia con la molécula de kaempferol y la molécula análoga con azufre con respecto a la sustituida con selenio, debido a que se produjo una reacción exergónica en la vía *f*-HAT-5a para la especie KmpSe (-1.69 kcal/mol). De esta forma, esta vía también es plausible para la estabilización del radical libre •OOH. Es decir, el hecho de sustituir con un átomo de selenio parece mejorar la capacidad antioxidante de la molécula.

Para el mecanismo RAF, se observó que en ambos casos (sustitución con azufre y selenio), se produjo la formación de los aductos de todas las especies en una sola posición, el carbono 2 (RAF-2). Esta posición es la única favorecida termodinámicamente, pues corresponde a reacciones exergónicas. De la misma forma que sucedió con la molécula de kaempferol, las reacciones de los demás sitios de las tres especies de los análogos con azufre y selenio en medio acuoso y las reacciones de la especie neutra en medio lipídico no se encuentran favorecidas termodinámicamente.

Las Figuras 13 y 14 presentan de forma gráfica los resultados obtenidos para la molécula sustituida con los grupos tiocarbonilo y selenocarbonilo, respectivamente. Con base en estas gráficas, se considera que el mecanismo más eficiente para la estabilización del radical libre •OOH es el mecanismo de transferencia formal de átomo de hidrógeno (*f*-HAT), seguido por el de la formación del aducto radical (RAF). Por otro lado, el mecanismo SET no es viable para ninguna de las especies estudiadas. La molécula análoga con azufre, proveyó resultados similares a los de la molécula de kaempferol para los mecanismos SET y *f*-HAT, con la

diferencia de la producción de tres reacciones exérgicas para el sitio RAF-2. Lo anterior, hace viable la captación del radical libre  $\bullet\text{OOH}$  para tres especies más, KmpS,  $\text{KmpS}^{2-}$  en medio acuoso y KmpS en medio lipídico, por este mecanismo.

Cabe destacar que el mecanismo *f*-HAT es más eficiente para la molécula análoga con selenio, debido a que hay una reacción exérgica en la vía *f*-HAT-5a en la especie neutra en medio acuoso, además de las reacciones exérgicas de las vías *f*-HAT-4a' y *f*-HAT-3a. A diferencia de la molécula de kaempferol y la molécula análoga con azufre, ya que en ambas solo hubo reacciones exérgicas para las vías *f*-HAT-4a' y *f*-HAT-3a.

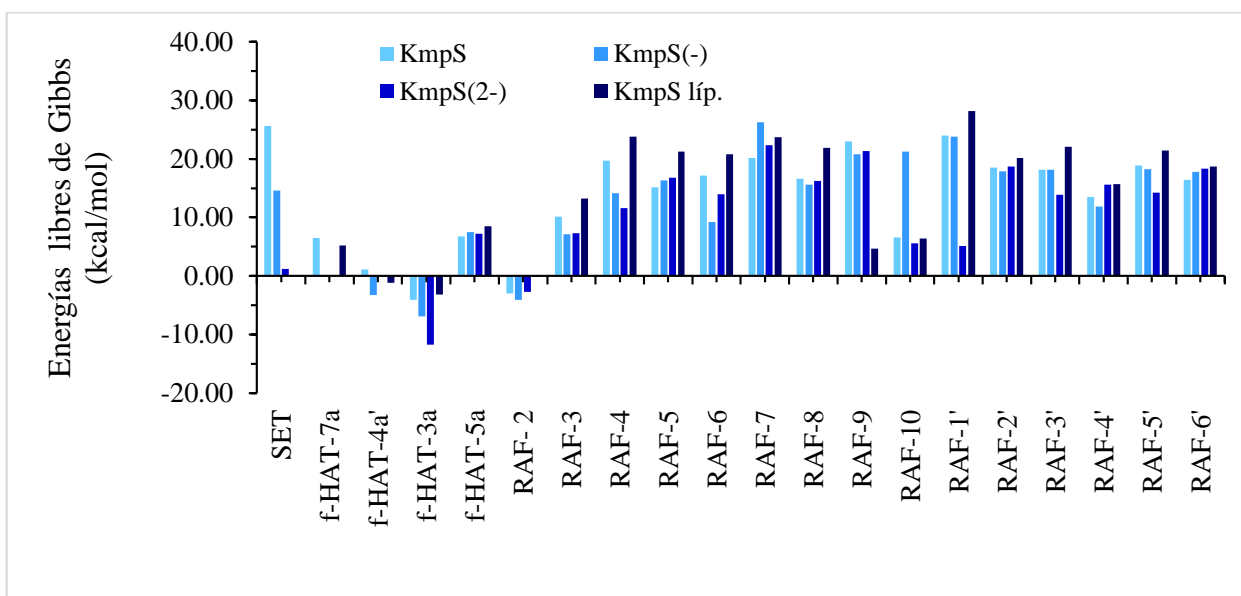


Figura 13. Energías libres de Gibbs (kcal/mol) del kaempferol con un grupo tiocarbonilo y  $\bullet\text{OOH}$  a 298,15 K (Líp= pentilenoato).

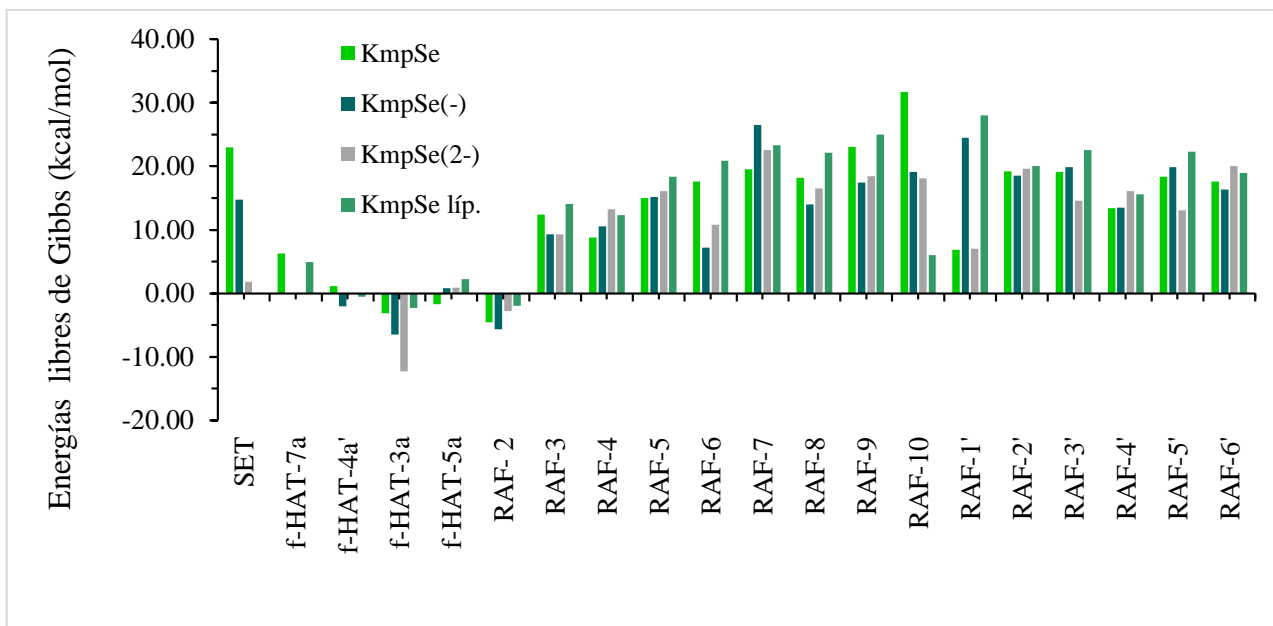


Figura 14. Energías libres de Gibbs (kcal/mol) del kaempferol con un grupo selenocarbonilo y •OOH a 298,15 K (Líp= pentiletanoato).

La finalidad de sustituir el átomo de oxígeno con átomos de otros elementos es observar si hay un incremento en la capacidad antioxidante de la molécula de kaempferol. En la Tabla 7 se hace un resumen de los resultados obtenidos de la molécula de kaempferol y las sustituciones con azufre y selenio. Dicha tabla reporta el número de reacciones exergónicas producidas para cada uno de los mecanismos examinados. Con base en los resultados obtenidos, la molécula de kaempferol tiene siete reacciones exergónicas. Tres de ellas provenientes de  $Kmp^{\cdot-}$ , que es la especie con mayor capacidad antioxidante, seguida de la neutra en medio lipídico con dos reacciones. La especie neutra en medio acuoso produjo solo una reacción exergónica, lo mismo que la especie doblemente desprotonada ( $Kmp^{2-}$ ). Para el caso de la molécula de kaempferol sustituida con un grupo tiocarbonilo se observa que tiene diez reacciones exergónicas. Tres provienen de  $KmpS^{\cdot-}$  y otras tres de la especie neutra en medio lipídico ( $KmpS$ ), que son las especies con mayor capacidad antioxidante. Las especies neutra y doblemente desprotonada ( $KmpS^{2-}$ ) también tuvieron la misma cantidad de reacciones exergónicas, con dos cada una. Con respecto a la molécula de kaempferol con la sustitución con un átomo de selenio tiene once reacciones exergónicas. Las especies  $KmpSe$ ,  $KmpSe^{\cdot-}$  y  $KmpSe$  en medio lipídico produjeron tres reacciones exergónicas cada una, la especie  $KmpSe^{2-}$  solo produjo dos reacciones exergónicas. Con base en la cantidad de reacciones exergónicas obtenidas se puede concluir que la molécula sustituida con un átomo

de selenio es la que tiene mayor capacidad antioxidante, debido a que presenta once reacciones exergónicas. La molécula sustituida con un átomo de azufre produjo diez reacciones favorecidas termodinámicamente y finalmente, kaempferol con siete reacciones favorecidas, por lo que se puede establecer el siguiente orden antioxidante  $\text{KmpSe} > \text{KmpS} > \text{Kmp}$ . Por otro lado, y analizando los mecanismos estudiados, se puede aseverar que el orden de la eficiencia de los mecanismos para el antioxidante kaempferol y sus análogos sustituidos en la posición 4 con átomos de azufre y de selenio es el siguiente:

$f\text{-HAT} > \text{RAF}$  y SET que no fue viable para ninguno.

Tabla 7. Número de reacciones exergónicas de los mecanismos SET,  $f\text{-HAT}$  y RAF de la molécula de kaempferol y sus moléculas análogas con azufre y selenio.

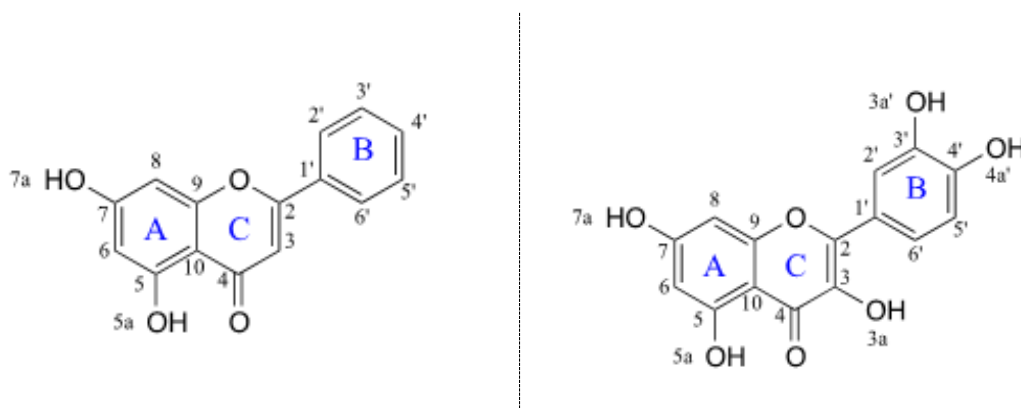
	SET	$f\text{-HAT}$	RAF	Total
Kmp	0	1	0	1
Kmp <sup>-</sup>	0	2	1	3
Kmp <sup>2-</sup>	0	1	0	1
Kmp Líp.	----	2	0	2
<b>Total</b>	<b>0</b>	<b>6</b>	<b>1</b>	<b>7</b>
KmpS	0	1	1	2
KmpS <sup>-</sup>	0	2	1	3
KmpS <sup>2-</sup>	0	1	1	2
KmpS Líp.	----	2	1	3
<b>Total</b>	<b>0</b>	<b>6</b>	<b>4</b>	<b>10</b>
KmpSe	0	2	1	3
KmpSe <sup>-</sup>	0	2	1	3
KmpSe <sup>2-</sup>	0	1	1	2
KmpSe Líp.	----	2	1	3
<b>Total</b>	<b>0</b>	<b>7</b>	<b>4</b>	<b>11</b>

### 3. Comparación con otros flavonoides

La capacidad antioxidante de las moléculas de quercetina (QR) y crisina (CNA) se ha estudiado en el artículo intitulado “Chalcogen Effects on the Primary Antioxidant Activity of Chrysin and Quercetin” de los autores R. Castañeda, T. Marino, N. Russo, J. Álvarez-Idaboy y A. Galano, y publicado en *New Journal of Chemistry*, en el año 2020. En este estudio computacional, la capacidad antioxidante de esas moléculas se analiza sustituyendo el átomo de oxígeno en posición 4 por átomos de azufre y selenio, con la expectativa de mejorar la capacidad antioxidante. Los principales resultados indican que la sustitución con

esos átomos mejora la capacidad antioxidante de las moléculas de quercetina y crisina. En este trabajo se comparan esos resultados con los obtenidos para kaempferol y sus análogos sustituidos con la intención de observar en qué medida las sustituciones en kaempferol mejoran su capacidad antioxidante comparada con QR y CNA.

En el Esquema 3 se observan las estructuras moleculares de quercetina y crisina; polifenoles pertenecientes a la misma familia de la que proviene el kaempferol. Ambas moléculas son flavonoides con características similares: antivirales, anticancerígenas, antibacteriales, antiinflamatorias, antimutagénicas, ansiolíticas y antioxidantes.<sup>19</sup>



Esquema 3. Estructura molecular de crisina y quercetina, respectivamente.

Los estudios para determinar los valores de pKa de las especies: quercetina (QR) y crisina (CNA), revelaron los siguientes valores.<sup>16</sup> En la Tabla 8 se presentan los valores de kaempferol (Kmp) para poder compararlos.

Tabla 8. Constantes ácidas computacionales (expresadas como valores de pKa) para las especies de flavonoides QR, CNA y Kmp y las fracciones molares ( $M_f$ ) de las especies neutras, monoaniónicas y dianiónicas a pH = 7.4, tomadas de la literatura.<sup>16</sup>

	pKa <sub>1</sub>	pKa <sub>2</sub>	pKa <sub>3</sub>	pKa <sub>4</sub>	pKa <sub>5</sub>	$M_f$ H <sub>n</sub> XA	$M_f$ H <sub>(n-1)</sub> XA <sup>-</sup>	$M_f$ H <sub>(n-2)</sub> XA <sup>2-</sup>
Crisina	7.50	11.25				0.557	0.443	0.00006
Quercetina	7.42	7.84	10.27	12.64	13.18	0.432	0.415	0.152
Kaempferol	7.11	9.09	11.33	13.26		0.334	0.652	0.013

Los valores de pKa de estas dos moléculas y el kaempferol son diferentes debido a la posición y cantidad de grupos hidroxilo. La molécula de quercetina cuenta con cinco grupos hidroxilo, a diferencia de la molécula de kaempferol, que solo tiene cuatro y la molécula de crisina con

dos grupos. Debido a esto, el orden de desprotonación de las moléculas es diferente: en el caso de la molécula de kaempferol y la molécula de crisina, el protón más ácido corresponde al anillo A posición 7a , a diferencia de la molécula de quercetina, en la cual el protón más ácido es del anillo B posición 4a’.

En las Figuras 15 y 16, se observan los resultados de la capacidad antioxidante primaria obtenidos para las moléculas de quercetina y crisina. Se presentan de forma gráfica, ya que es más fácil estudiar los resultados de los mecanismos estudiados. Con base en ambas Figuras, se puede aseverar que el mecanismo SET presenta un comportamiento similar al de la molécula de kaempferol, ya que las especies más abundantes de la quercetina y la crisina producen reacciones endergónicas, por lo que son inviables para la estabilización del radical libre  $\bullet\text{OOH}$ .

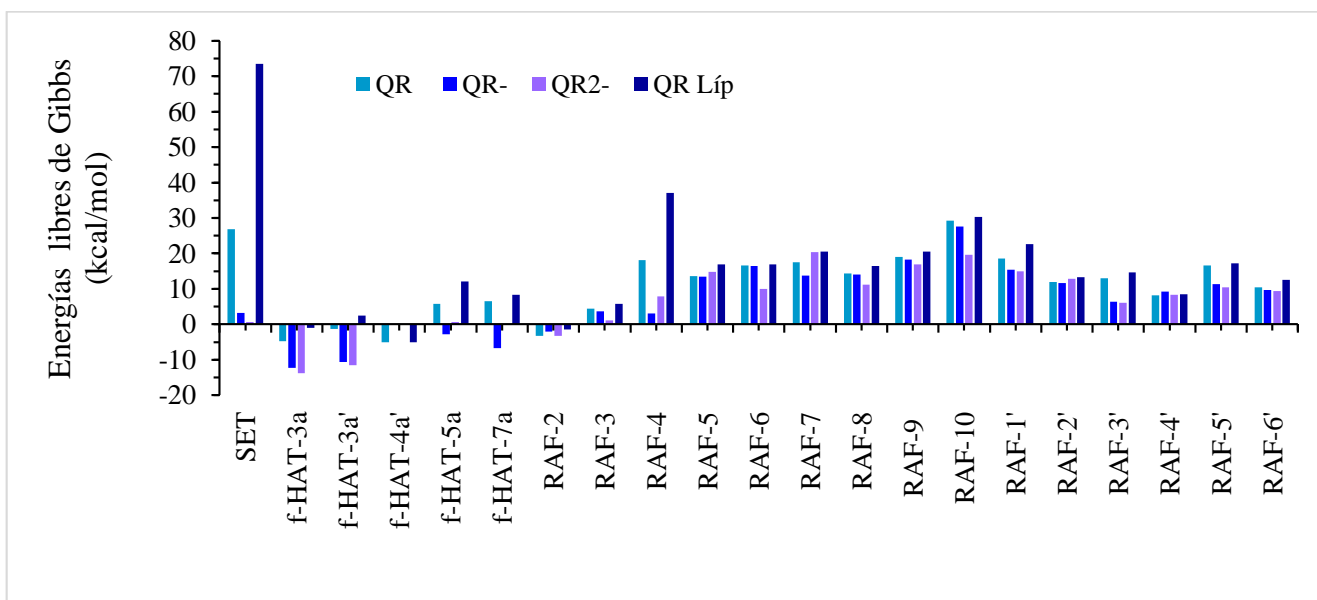


Figura 15. Energías libres de Gibbs (kcal/mol) de quercetina con  $\bullet\text{OOH}$  a 298.15 K. (Líp= pentiletanoato).

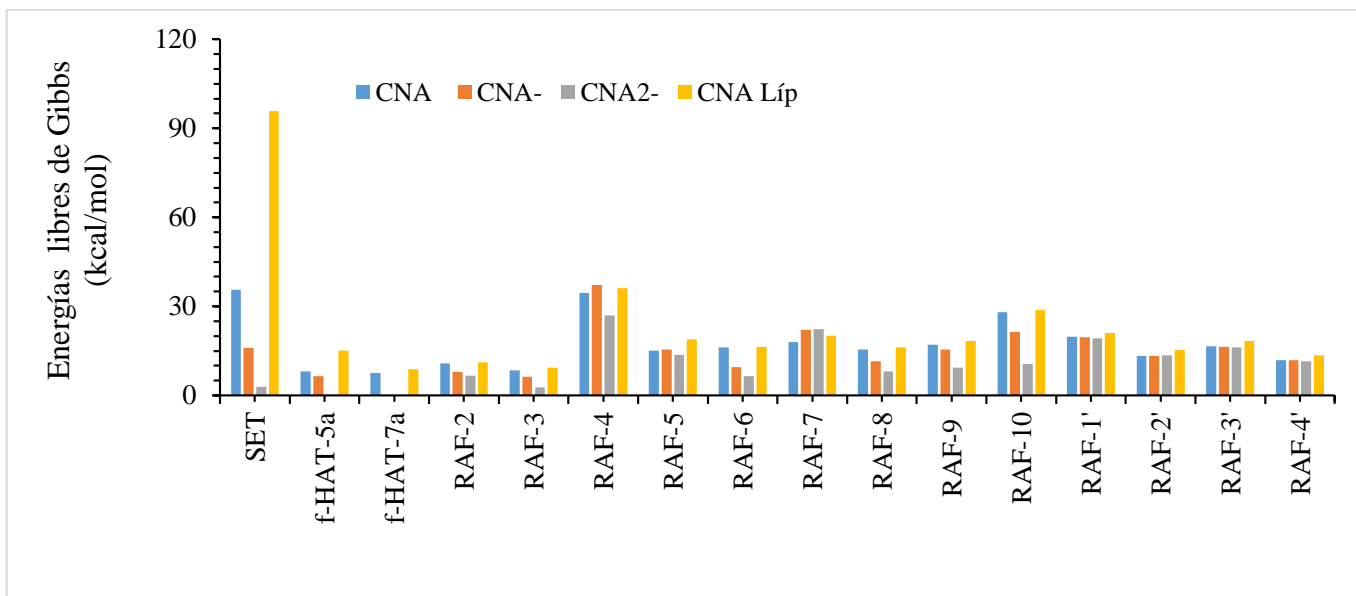


Figura 16. Energías libres de Gibbs (kcal/mol) de crisina con  $\bullet\text{OOH}$  a 298.15 K. (Líp= pentiletanoato).

En cuanto al análisis del mecanismo *f*-HAT, para la molécula de quercetina, se produjeron reacciones exergónicas en las vías *f*-HAT-3a, para todas las especies, en la vía *f*-HAT-3a' con excepción de la especie neutra en medio lipídico; la vía *f*-HAT-4a' para la especie neutra en medio acuoso y lipídico y las vías *f*-HAT-5a y *f*-HAT-7a para la especie desprotonada. Por su parte, la molécula de crisina solo tiene dos grupos hidroxilos y, por lo tanto, solo dos vías para el mecanismo *f*-HAT: *f*-HAT-5a y 7a. Con base en la Figura 16, ninguna de las dos vías es factible para la estabilización del radical libre  $\bullet\text{OOH}$ , ya que se produjeron reacciones endergónicas.

Respecto al mecanismo RAF, para la molécula de quercetina se observa un comportamiento similar al de la molécula de kaempferol, ya que solo en la vía RAF-2 para las especies más abundantes del antioxidante se formó un aducto radical. Las reacciones de las otras posiciones son endergónicas, por lo tanto, no son favorables para formar un aducto estable y debido a esto, la molécula de quercetina no tiene la posibilidad de estabilizar al radical libre  $\bullet\text{OOH}$ , de acuerdo con el mecanismo RAF. En el caso de la molécula de crisina, no hay reacciones exergónicas, para el mecanismo RAF. En la Figura 16, se observa que ninguno de los sitios reactivos de la crisina es viable para la estabilización del radical libre. Por lo tanto, el empleo de este antioxidante para la estabilización y captación del  $\bullet\text{OOH}$  no se considera factible, ya que todas las reacciones estudiadas son endergónicas.

En la Tabla 9 se hace un resumen del número de reacciones exergónicas producidas en cada uno de los mecanismos, para las moléculas de quercetina y crisina. Por una cuestión de claridad, se vuelven a ilustrar los resultados de kaempferol y sus especies.

Tabla 9. Número de reacciones exergónicas de los mecanismos SET, *f*-HAT y RAF de las moléculas de kaempferol, quercetina y crisina.

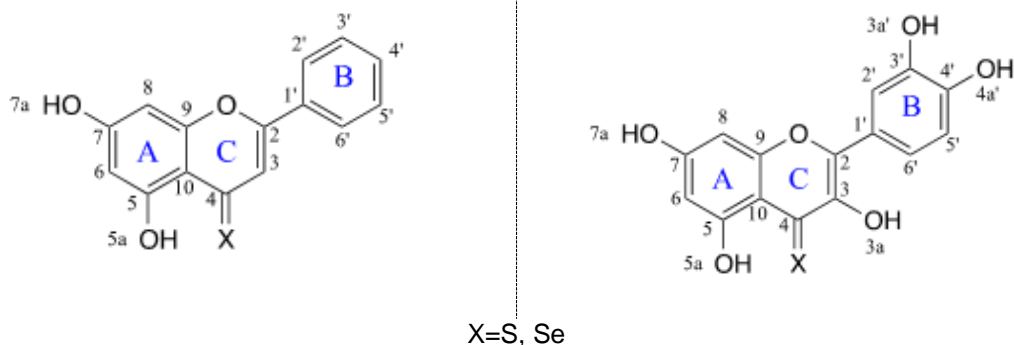
		SET	<i>f</i> -HAT	RAF	Total
Kaempferol	Kmp	0	1	0	1
	Kmp <sup>-</sup>	0	2	1	3
	Kmp <sup>2-</sup>	0	1	0	1
	Kmp Líp.	----	2	0	2
	<b>Total</b>	<b>0</b>	<b>6</b>	<b>1</b>	<b>7</b>
Quercetina	QR	0	3	1	4
	QR <sup>-</sup>	0	4	1	5
	QR <sup>2-</sup>	0	2	1	3
	QR Líp.	----	2	1	3
	<b>Total</b>	<b>0</b>	<b>11</b>	<b>4</b>	<b>15</b>
Crisina	CNA	0	0	0	0
	CNA <sup>-</sup>	0	0	0	0
	CNA <sup>2-</sup>	0	0	0	0
	CNA Líp.	----	0	0	0
	<b>Total</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>

Con respecto a los resultados de la molécula de quercetina, se observa que tiene quince reacciones exergónicas, de las cuales cuatro de ellas provienen de QR y tres de QR<sup>2-</sup>. De la especie QR<sup>-</sup> provienen cinco reacciones más y es la especie con mayor capacidad antioxidante. La especie neutra en medio lipídico produjo tres reacciones. Con base en el análisis de los resultados de la molécula de crisina, se observa que no tiene reacciones exergónicas para ninguna de sus especies. Con estos resultados se puede concluir que la molécula con mayor capacidad antioxidante ante el radical •OOH es QR > Kmp > CNA.

#### 4. Efecto calcógeno en kaempferol, quercetina y crisina

A continuación, se describe el efecto de la sustitución del átomo de oxígeno de la posición 4 con los átomos de azufre y selenio (efecto calcógeno) para ambas moléculas (QR y CNA), para evaluar si existe una mejoría en la capacidad antioxidante. Ambas estructuras moleculares se encuentran ilustradas en el Esquema 4.





Esquema 4. Estructura molecular de crisina y quercetina, respectivamente, con el sitio de sustitución.

Se recabaron los valores de pKa de las moléculas sustituidas, así como las fracciones molares de sus distintas especies a pH fisiológico, mismas que se presentan en la Tabla 10.<sup>16</sup> Se puede observar que las especies más abundantes son las especies neutras (QRS, QRSe, CNAS y CNASe), desprotonadas (QRS<sup>-</sup>, QRSe<sup>-</sup>, CNAS<sup>-</sup> y CNASe<sup>-</sup>) y doblemente desprotonadas (QRS<sup>2-</sup>, QRSe<sup>2-</sup>, CNAS<sup>2-</sup> y CNASe<sup>2-</sup>), al igual que las moléculas sin sustituir y que el kaempferol y sus análogos de azufre y selenio.

Tabla 10. Constantes ácidas computacionales (expresadas como valores de pKa) para las especies de flavonoides QR, CNA, sus especies sustituidas y las fracciones molares ( $M_f$ ) de las especies neutras, monoaniónicas y dianiónicas a pH = 7.4, tomadas de la literatura.<sup>16</sup>

	pKa <sub>1</sub>	pKa <sub>2</sub>	pKa <sub>3</sub>	pKa <sub>4</sub>	pKa <sub>5</sub>	$M_f$ H <sub>n</sub> XA	$M_f$ H <sub>(n-1)</sub> XA <sup>-</sup>	$M_f$ H <sub>(n-2)</sub> XA <sup>2-</sup>
QR	7.42	7.84	10.27	12.64	13.18	0.43289	0.41477	0.15213
QRS	7.03	7.88	11.12	12.72	15.17	0.24246	0.56926	0.18824
QRSe	6.83	7.49	10.51	12.50	12.94	0.12854	0.47994	0.39121
CNA	7.50	11.25				0.55728	0.44266	0.00006
CNAS	7.11	12.30				0.33900	0.66099	0.00001
CNASe	6.82	10.54				0.20813	0.79129	0.00057

Los resultados de la capacidad antioxidante primaria para las moléculas de quercetina y crisina sustituidas con un grupo tiocarbonilo se presentan en las Figuras 17 y 18, respectivamente. Como se puede observar, el mecanismo SET no es viable para la molécula de quercetina, pero sí lo es para la molécula de crisina, ya que se produjo una reacción exérgica en la especie doblemente desprotonada (CNAS<sup>2-</sup>) (-3.24kcal/mol).

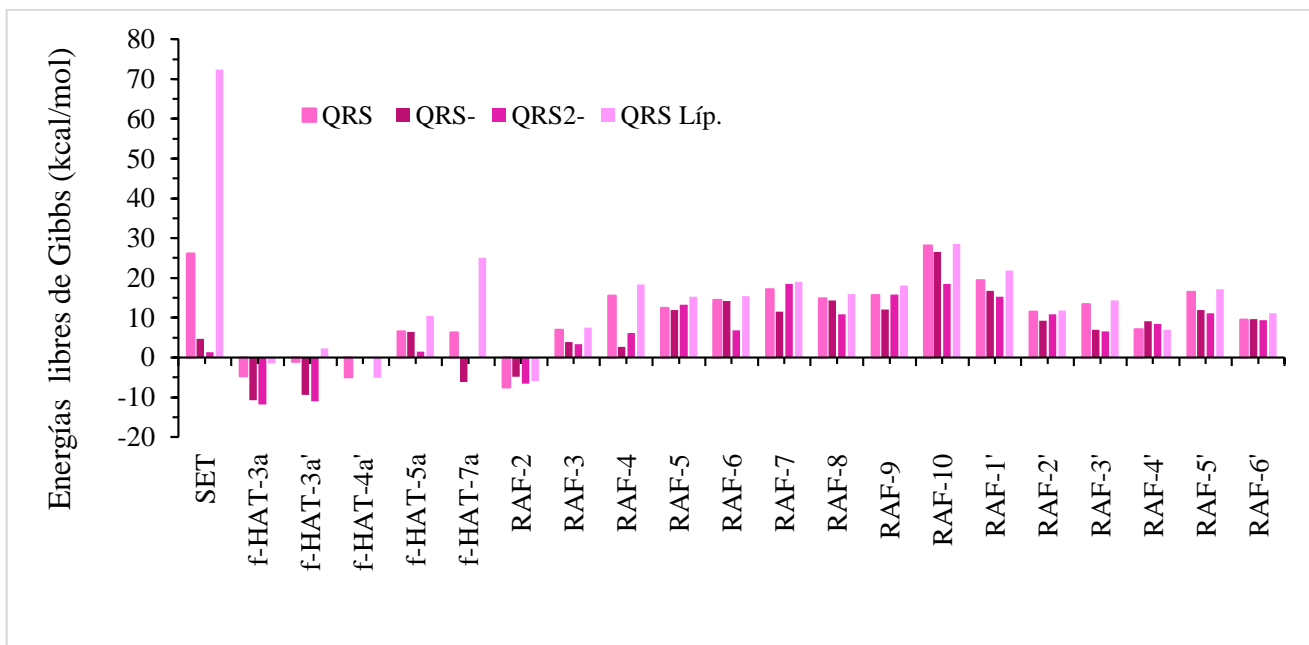


Figura 17. Energías libres de Gibbs (kcal/mol) de quercetina sustituida con un grupo tiocarbonilo y •OOH a 298.15 K (Líp= pentiletanoato).

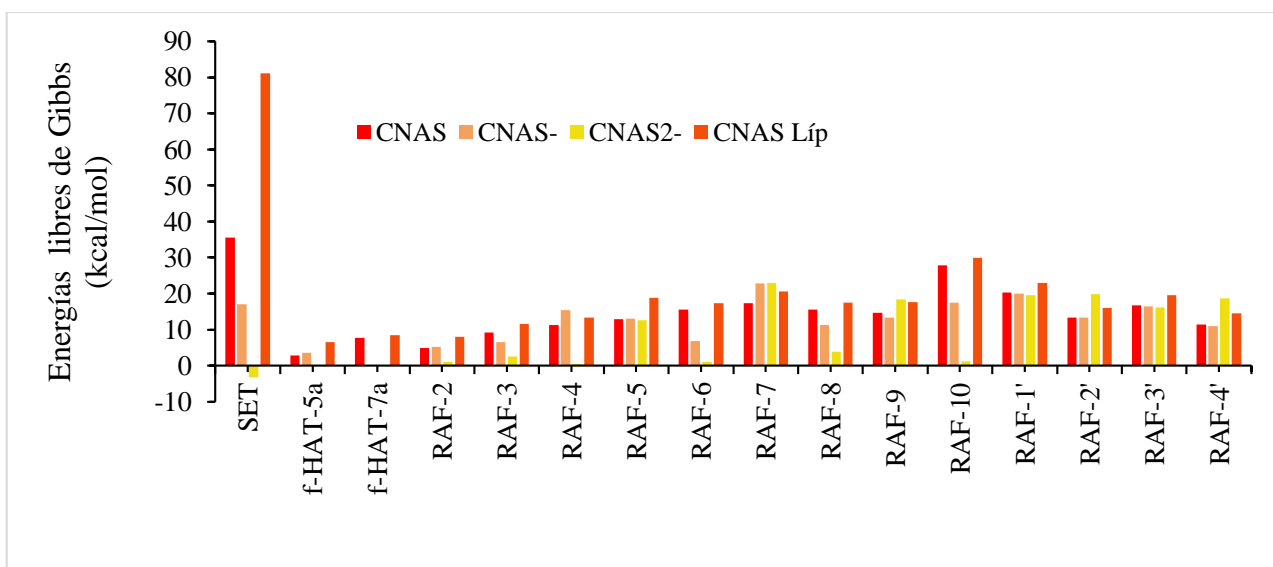


Figura 18. Energías libres de Gibbs (kcal/mol) de crisina sustituida con un grupo tiocarbonilo y •OOH a 298.15 K (Líp= pentiletanoato).

Respecto al mecanismo *f*-HAT, para la molécula de quercetina se produjeron reacciones exergónicas en las vías *f*-HAT-3a para todas las especies en los dos disolventes, en *f*-HAT-3a' para todas las especies en medio acuoso, en *f*-HAT-4a' para las especies neutras en medio acuoso (-5.02 kcal/mol) y lipídico (-5.14 kcal/mol) y, en *f*-HAT-7a para la especie desprotonada (-6.13 kcal/mol). Para la molécula de crisina, la sustitución con un átomo de

azufre no produjo reacciones estables en la transferencia de un átomo de hidrógeno, ya que, en las vías *f*-HAT-5a y 7a se produjeron reacciones endergónicas y, por lo tanto, no es viable para la estabilización del radical libre •OOH.

Para el mecanismo RAF en la molécula de quercetina sustituida con un átomo de azufre, solo hubo una posición favorecida para la formación de un aducto: la vía 2 (RAF-2). Las demás reacciones son endergónicas, por lo que no son favorables para formar un aducto estable y, por lo tanto, no pueden estabilizar al radical libre •OOH. En el caso de la molécula análoga de crisina con azufre, el mecanismo RAF presenta resultados similares a los de la molécula de crisina, ya que no hay reacciones exergónicas y en la Figura 18, se observa que no son viables ninguno de los sitios reactivos de la crisina para la estabilización del radical libre •OOH.

En las Figuras 19 y 20, se presenta de forma gráfica los resultados obtenidos para las moléculas de quercetina y crisina sustituidas con un grupo selenocarbonilo en la posición 4. Para la molécula análoga de quercetina, el mecanismo SET es inviable para la estabilización del radical libre •OOH, debido a que se producen reacciones endergónicas. Por otro lado, para la molécula análoga de crisina, se observa una reacción exergónica para la especie doblemente desprotonada (-4.18 kcal/mol), de modo que el mecanismo SET es viable para la estabilización del radical libre •OOH.

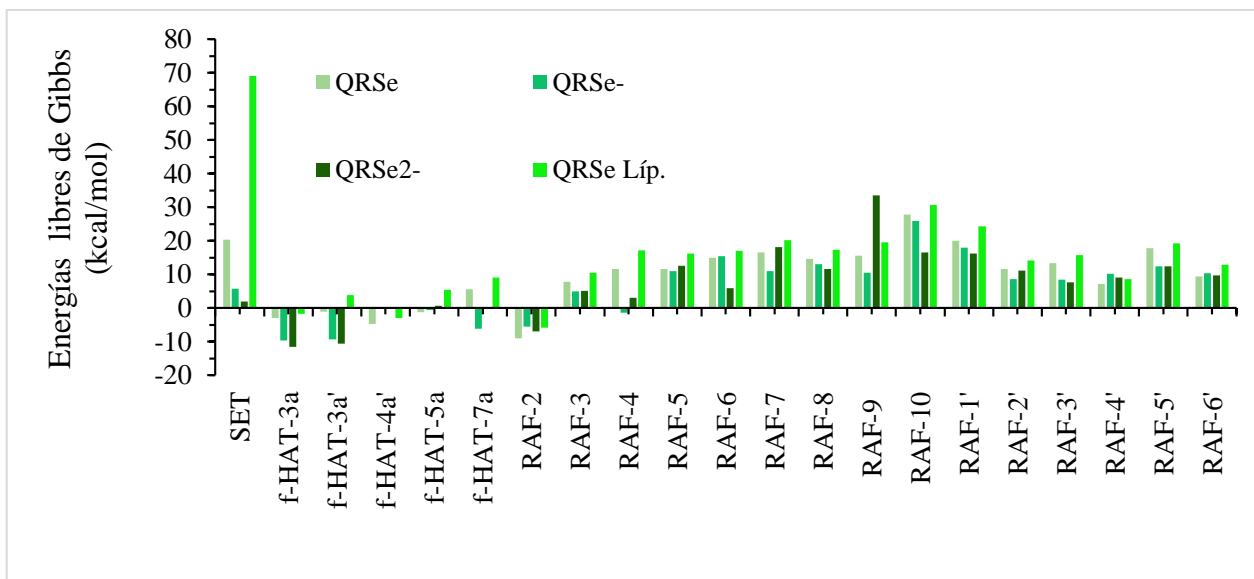


Figura 19. Energías libres de Gibbs (kcal/mol) de quercetina sustituida con un selenocarbonilo y  $\bullet\text{OOH}$  a 298.15 K (Líp= pentiletanoato).

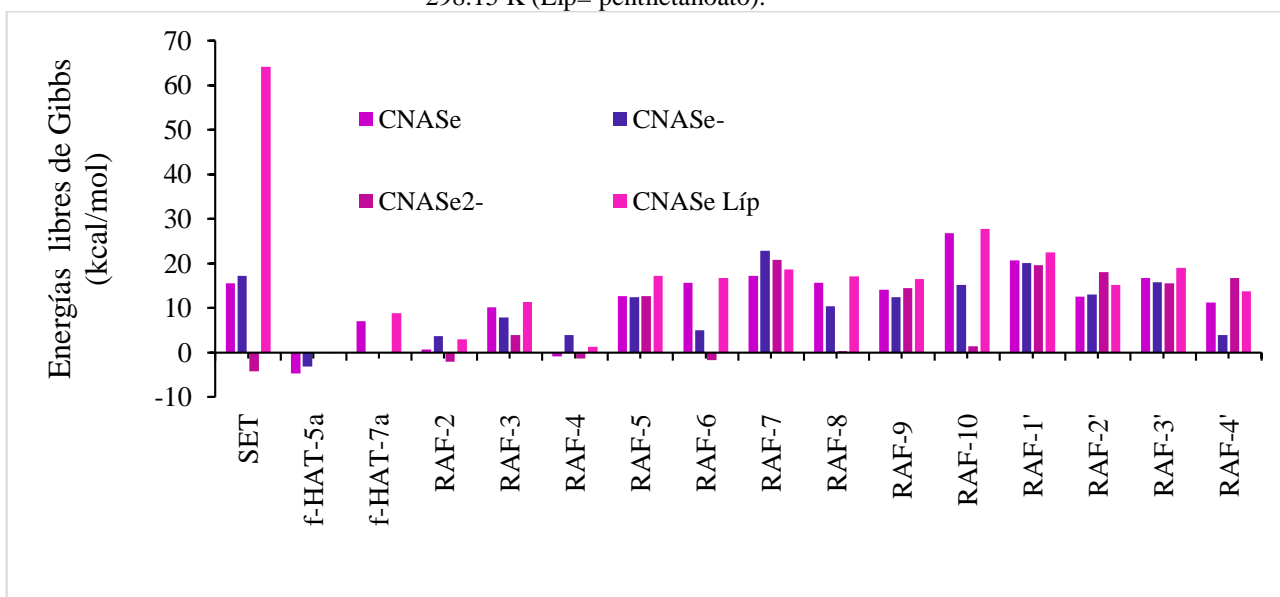


Figura 20. Energías libres de Gibbs (kcal/mol) de crisina sustituida un selenocarbonilo y  $\bullet\text{OOH}$  a 298.15 K (Líp= pentiletanoato).

Con respecto al mecanismo *f*-HAT, la sustitución con un selenocarbonilo para la molécula de quercetina, favoreció la estabilización del radical libre  $\bullet\text{OOH}$  por la vía *f*-HAT-5a, para la especie neutra en medio acuoso, además de las vías restantes ilustradas en la Figura 19. Para la molécula de crisina sustituida con un selenocarbonilo se obtuvo una vía posible para la estabilización del radical libre  $\bullet\text{OOH}$ , que corresponde a la vía *f*-HAT-5a para las especies neutras y desprotonadas en medio acuoso y lipídico.

Para el mecanismo RAF, en el caso de la molécula de quercetina con un selenocarbonilo, se observa que se produjeron reacciones exergónicas en la vía RAF-2 para las especies más abundantes y en posición del carbono 4 (RAF-4) para la formación de un aducto en la especie desprotonada (-1.35 kcal/mol). Para la molécula de crisina sustituida con un átomo de selenio, se observan reacciones exergónicas en las vías 2 (RAF-2) para la especie doblemente desprotonada (-2.06 kcal/mol), 4 (RAF-4) para las especies neutras (-0.85 kcal/mol) y doblemente desprotonada (-1.40 kcal/mol) y, 6 (RAF-6) para la especie doblemente desprotonada (-1.73 kcal/mol). Por lo tanto, tiene más vías posibles para la formación de un aducto radical y así, estabilizar al radical libre  $\bullet\text{OOH}$ . Las demás reacciones fueron endergónicas, por lo que no son favorables para formar un aducto estable y, debido a esto, no hay posibilidad de estabilizar al radical libre  $\bullet\text{OOH}$ .

Además, se analizaron los tres flavonoides (kaempferol, quercetina y crisina) con sus sustituciones, para cada uno de los mecanismos estudiados. En la Tabla 11 se presenta el número de reacciones exergónicas producidas por los tres flavonoides, considerando las distintas especies a pH fisiológico y sus análogos sustituidos. Por una cuestión de claridad, se vuelven a ilustrar los resultados de kaempferol y sus especies en esta tabla.

De acuerdo con los resultados de la molécula de quercetina sustituida con un átomo de azufre se observa que tiene catorce reacciones exergónicas. Cuatro provienen de QRS y otras cuatro de la especie  $\text{QRS}^-$ , que son las especies con mayor capacidad antioxidante. Las especies neutra en medio lipídico y doblemente desprotonada ( $\text{QRS}^{2-}$ ) también tuvieron la misma cantidad de reacciones exergónicas, con tres cada una. Con respecto a la molécula de quercetina con la sustitución con un átomo de selenio tiene diecisiete reacciones exergónicas. La especie QRSe produjo cinco reacciones exergónicas,  $\text{QRSe}^-$  produjo seis reacciones exergónicas y las especies  $\text{QRSe}^{2-}$  y QRSe en medio lipídico produjeron la misma cantidad de reacciones exergónicas, con tres reacciones cada una.

Con base en el análisis de los resultados de la molécula de crisina sustituida con un átomo de azufre se observa que tiene una reacción exergónica, proveniente de la especie  $\text{CNAS}^{2-}$ . Con respecto a la molécula de crisina con la sustitución con un grupo selenocarbonilo tiene ocho reacciones exergónicas. Cuatro de esas reacciones provienen de la especie  $\text{CNASe}^{2-}$ , que es la especie con mayor capacidad antioxidante. La especie  $\text{CNASe}$  produjo dos reacciones

exergónicas y las especies  $CNAsSe^-$  y  $CNAsSe$  en medio lipídico produjeron una reacción cada una.

Tabla 11. Número de reacciones exergónicas para los mecanismos SET, *f*-HAT y RAF de las moléculas de kaempferol, quercetina y crisina.

		SET	<i>f</i> -HAT	RAF	Total
Kmp	Total	0	6	1	7
KmpS	Total	0	6	4	10
KmpSe	Total	0	7	4	11
QR	Total	0	11	4	15
QRS	QRS	0	3	1	4
	QRS <sup>-</sup>	0	3	1	4
	QRS <sup>2-</sup>	0	2	1	3
	QRS Líp.	0	2	1	3
Total		0	10	4	14
QRSe	QRSe	0	4	1	5
	QRSe <sup>-</sup>	0	4	2	6
	QRSe <sup>2-</sup>	0	2	1	3
	QRSe Líp.	0	2	1	3
Total		0	12	5	17
CNA	Total	0	0	0	0
CNAS	CNAS	0	0	0	0
	CNAS <sup>-</sup>	0	0	0	0
	CNAS <sup>2-</sup>	1	0	0	1
	CNAS Líp.	0	0	0	0
Total		1	0	0	1
CNAsSe	CNAsSe	0	1	1	2
	CNAsSe <sup>-</sup>	0	1	0	1
	CNAsSe <sup>2-</sup>	1	0	3	4
	CNAsSe Líp.	0	1	0	1
Total		1	3	4	8

Con base en la cantidad de reacciones exergónicas obtenidas por cada flavonoide se puede concluir que las moléculas con un átomo de selenio son las que tienen mayor capacidad antioxidante. La molécula de quercetina sustituida presenta diecisiete reacciones exergónicas, la molécula de kaempferol sustituida presenta once y ocho para la molécula de crisina sustituida. Las moléculas sustituidas con un átomo de azufre produjeron catorce reacciones favorecidas termodinámicamente para quercetina, diez reacciones para kaempferol y una para crisina. Finalmente, la molécula de quercetina sin sustitución produjo quince reacciones exergónicas, la de kaempferol siete reacciones y la de crisina ninguna.

El efecto calcógeno de los tres flavonoides por mecanismo, se encuentra ilustrado gráficamente en la Figura 21.

Se considera que el mecanismo más eficiente para la estabilización del radical libre  $\bullet\text{OOH}$  para los flavonoides quercetina, kaempferol y sus especies sustituidas con S y Se es el mecanismo de transferencia formal de átomo de hidrógeno (*f*-HAT), seguido por el de la formación del aducto radical (RAF). Finalmente, el de la transferencia electrónica (SET) se considera inviable. Para la molécula de crisina y sus especies sustituidas, el orden de eficiencia de los mecanismos es diferente, ya que el mecanismo RAF se considera el más eficiente para la captación y estabilización del radical libre  $\bullet\text{OOH}$ . Lo anterior se debe a que se produjeron cuatro reacciones exérgicas, seguido de *f*-HAT con tres reacciones y por último SET, con dos reacciones favorecidas termodinámicamente.

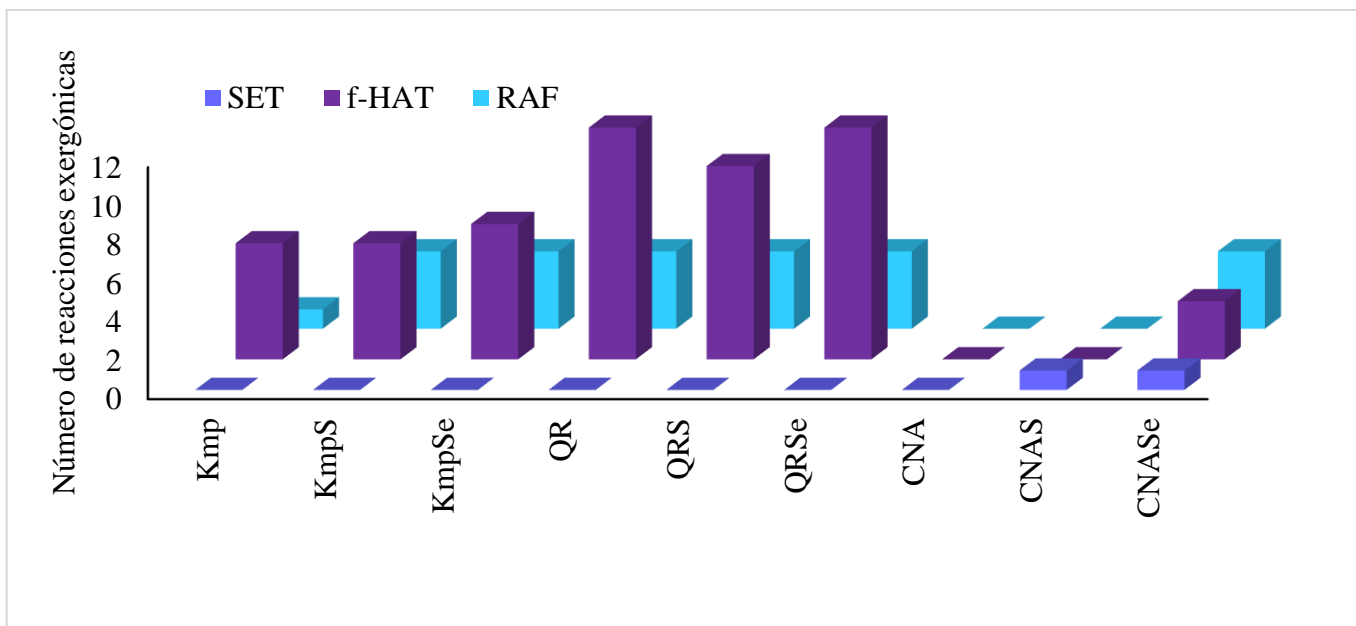


Figura 21. Número de reacciones exérgicas de los mecanismos SET, *f*-HAT y RAF de las moléculas de kaempferol, quercetina y crisina y sus análogos sustituidos.

## Referencias.

1. Quiñones, M.; Miguel, M.; Aleixandre, A. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular, *Nutrición Hospitalaria*, **2012**, 27/1, 76-89.
2. Bilkan, Mustafa. A Theoretical and experimental study on hydrogen-bonding interactions between guanazole and DMSO/Water, *Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, **2020**, 39/1, 1-13.
3. Wade, L. "Química Orgánica. Volumen 2". Pearson. México. 2012. Págs. 668,670,716,740.
4. Pérez, G. Los flavonoides: antioxidantes o prooxidantes, *Revista Cubana Investigación Biomédica*, **2003**, 22/1, 48-57.
5. Van Acker, S.; de Groot, M.; van den Berg, D.; Tromp, M.; den Kelder, G.; van der Vijgh, W.; Bast, A. A Quantum Chemical Explanation of the Antioxidant Activity of Flavonoids, *Chemical Research in Toxicology*, **1996**, 9/8, 1305-1312.
6. Russo, N.; Toscano, M.; Uccella, N. Semiempirical Molecular Modeling into Quercetin Reactive Site: Structural, Conformational, and Electronic Features, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2000**, 48/8, 3232-3237
7. Álvarez-Diduk, R.; Ramirez-Silva, M.; Galano, A.; Merkoçi, A. Deprotonation Mechanism and Acidity Constants in Aqueous Solution of Flavonols: a Combined Experimental and Theoretical Study, *Journal of Physical Chemistry B*, **2013**, 117/41, 12347-12359.
8. Galano, A. Free Radicals Induced Oxidative Stress at a Molecular Level: The Current Status, Challenges and Perspectives of Computational Chemistry Based Protocols, *Journal of the Mexican Chemical Society*, **2015**, 59/4, 231-262.
9. Saïd, A.; Mekelleche, S. Investigation of reaction mechanisms and kinetics of the radical scavenging ability of 5-tert-butylbenzene-1,2,3-triol and 3,5-di-tert-butylbenzene-1,2-diol compounds towards OOH radical, *Progress in Reaction Kinetics and Mechanism*, **2018**, 43/2, 101-111.
10. Rice, C.; Miller, N.; Paganga, G. Structure-Antioxidant Activity Relationships of Flavonoids and Phenolic Acids, *Free Radical Biology & Medicine*, **1996**, 20/7, 933-956.



11. Zhi, Y.; Wu, Z.; Zhao, B. A DFT Study on the Structural and Antioxidant Properties of Three Flavonols, *Food Biophysics*, **2013**, *8*, 90-94.
12. Zapata, S.; Piedrahita, A.; Rojano, B. Capacidad atrapadora de radicales oxígeno (ORAC) y fenoles totales de frutas y hortalizas de Colombia, *Perspectivas en Nutrición Humana*, **2014**, *16/1*, 25-36.
13. Belcastro, M.; Marino, T.; Russo, N.; Toscano, M. Structural and electronic characterization of antioxidants from marine organisms, *Theoretical Chemistry Accounts*, **2006**, *115*, 361-369.
14. Sernaqué, C.; Calvo, L.; Pumachagua, R. Estudio de la reactividad en moléculas fenólicas mediante la función de Fukui, *Revista de la Sociedad Química del Perú*, **2014**, *80/2*, 97-107.
15. Marenich, A.; Cramer, C.; Truhlar, D. Universal solvation model based on solute electron density and on a continuum model of the solvent defined by the bulk dielectric constant and atomic surface tensions, *The Journal of Physical Chemistry B*, **2009**, *113/18*, 6378-96.
16. Castañeda, Arriaga, R.; Marino, T.; Russo, N.; Álvarez-Idaboy, J.; Galano, A. Chalcogen Effects on the Primary Antioxidant Activity of Chrysin and Quercetin, *New Journal of Chemistry*, **2020**, *44*, 9073-9082.
17. Reisse J. **2011**. Endergonic. In: Gargaud M. et al. Encyclopedia of Astrobiology. Berlín: Springer.
18. Brown, L.; et al. Química. La Ciencia Central. Pearson. México. 2014. Págs. 619, 813.
19. Fonseca, S.; Lima, D.; Alves, D.; Jacob, R.; Perin, G.; João, E.; Savegnago, L.; Savegnago, L. Synthesis, characterization and antioxidant activity of organoselenium and organotellurium compounds derivatives of chrysin, *New Journal of Chemistry*, **2015**, *39/4*, 3043-3050.
20. Wade, L. "Química Orgánica. Volumen 1". Pearson. México. 2012. Págs. 28,433.

21. Wolfe, K.; Liu, H. Structure-Activity relationships of Flavonoids in the Cellular Antioxidant Activity Assay, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2008**, *56/18*, 8404-8411.

## ***VI.- Conclusiones***

- El kaempferol posee tres especies abundantes a pH fisiológico que tienen capacidad antioxidante: la especie neutra, la desprotonada y la doblemente desprotonada.
- De los tres mecanismos estudiados, *f*-HAT es el más eficiente para estabilizar al radical libre •OOH, seguido por RAF y SET se considera inviable.
- La sustitución en la molécula de kaempferol con átomos de azufre y selenio puede incrementar la capacidad antioxidante primaria.
- Al comparar los tres flavonoides, se encontró que es posible que la quercetina tenga una mayor capacidad antioxidante que el kaempferol y la crisina.
- Con respecto a la molécula de quercetina, el mecanismo *f*-HAT se puede considerar el más eficiente para la estabilización del radical libre •OOH, seguido por RAF y SET, que se considera inviable. Para la molécula de crisina, el mecanismo RAF se puede considerar el más eficiente para la estabilización del radical libre •OOH, seguido de *f*-HAT y por último SET.
- Para la quercetina, su análogo con selenio podría mejorar la capacidad antioxidante en el mecanismo *f*-HAT. En el caso de crisina, la sustitución con un átomo de azufre y selenio, respectivamente, puede mejorar la capacidad antioxidante para los tres mecanismos estudiados, ya que, con un átomo de oxígeno, los resultados aquí reportados para el empleo de este antioxidante en la estabilización del radical libre •OOH indican que no es viable.