



---

---

---

**UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO**

**DIVISIÓN DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS**

**CAMPUS GUANAJUATO**

**“ESTUDIOS TEÓRICO-COMPUTACIONALES  
SOBRE LAS INTERACCIONES ENTRE  
MOLÉCULAS ANTIOXIDANTES Y GRAFENO Y  
SUS NUEVOS DERIVADOS”**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

**DOCTORA EN QUÍMICA**

P R E S E N T A :

**M.Q.B. BRENDA MANZANILLA VIVEROS**

DIRECTOR:

**DR. JUVENCIO ROBLES GARCÍA**

GUANAJUATO, GTO., MARZO DE 2021.

**JURADO ASIGNADO PARA LA EVALUACIÓN DE  
ESTE TRABAJO**

**Presidente**

Dr. Miguel Ángel Vázquez Guevara  
Departamento de Química  
Universidad de Guanajuato

**Secretario**

Dr. Marco Antonio García Revilla  
Departamento de Química  
Universidad de Guanajuato

**Vocal**

Dra. Minerva Martínez Alfaro  
Departamento de Farmacia  
Universidad de Guanajuato

**Vocal**

Dr. Juan Faustino Aguilera Granja  
Instituto de Física  
Universidad Autónoma de San Luis Potosí

**Vocal**

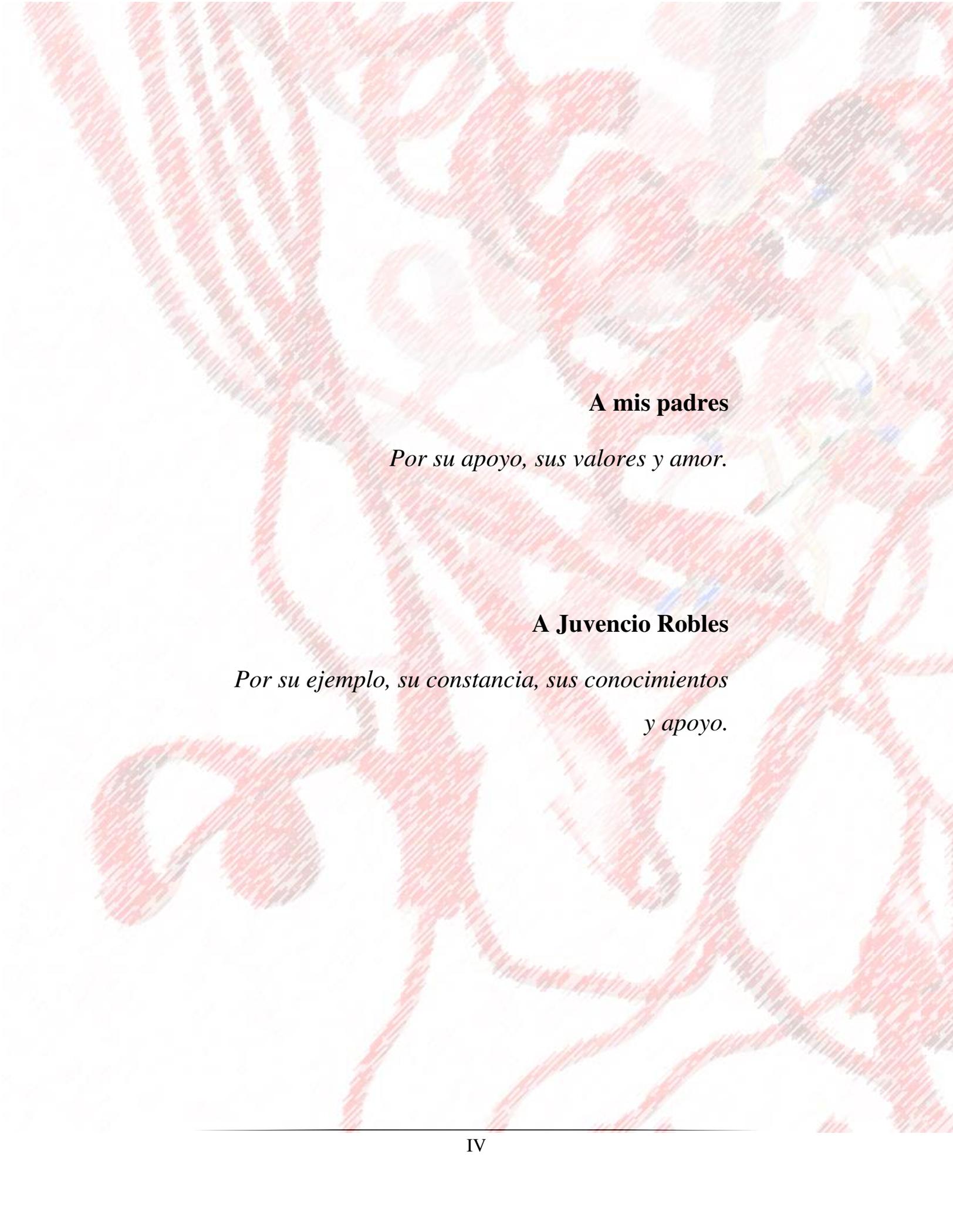
Dra. Myrna Hernández Matus  
Instituto de Química aplicada  
Universidad Veracruzana

**Suplente**

Dr. Erik Díaz Cervantes  
Centro Interdisciplinario del Noreste, Universidad de  
Guanajuato

Con orden y tiempo se encuentra el secreto de hacerlo todo,  
y de hacerlo bien.

*Pitágoras (582 AC-497 AC) Filósofo y matemático griego*

The background of the page is a repeating pattern of stylized red flowers and leaves, rendered in a fine, cross-hatched or stippled style. The pattern is dense and covers the entire page, with the flowers having a central circular motif and the leaves being elongated and pointed.

**A mis padres**

*Por su apoyo, sus valores y amor.*

**A Juvencio Robles**

*Por su ejemplo, su constancia, sus conocimientos  
y apoyo.*

---

# AGRADECIMIENTOS

---

Este trabajo fue realizado con el apoyo de la Universidad de Guanajuato (UG) y CONACYT.

Agradezco a:

- La División de Ciencias Naturales y Exactas (DCNE) y a la Universidad de Guanajuato por aceptarme en su programa de Doctorado y, por el apoyo económico que se me ha proporcionado para presentar carteles y ponencias en congresos.
- El Laboratorio Nacional de Cómputo de Alto Desempeño de la UG y con financiamiento del CONACYT (1237332), *Pipila*, por el tiempo y espacio para realizar toda la investigación de este trabajo, sin el cual esta no habría sido posible.
- La beca de Doctorado proporcionada por CONACYT con No. 580068/296892 que me permitió estudiar lejos de mi estado.

Quiero agradecer a:

Mi familia por enseñarme valores importantes como la responsabilidad, no mentir y trabajar muy duro para conseguir lo que quieres y por el apoyo que me han mostrado.

A mi novio, J.L., por su muy enorme paciencia, por todo el apoyo incondicional que me ha dado, por alentarme y motivarme a cada momento para concluir y seguir por más sueños.

A mis amigas, por haber creído en mí. A Diana, por leerme, contestarme cada que requería desahogarme, regañarme en momentos de desenfoco y por ofrecerme incondicionalmente su ayuda. A Isis, también por no dejarme sola y estar cuando lo necesitaba. A Lili, por sus siempre muy atinados consejos y apoyo.

A Myrna H. Matus, porque si no fuera por ella, no me habría decidido a realizar un Doctorado. Gracias por todas sus enseñanzas, consejos y por ser una excelente amiga. También debo agradecer que me enseñó muchos valores y lecciones importantes de vida, como la importancia de la constancia y trabajo duro sobre la inteligencia. Le agradezco el

creer y depositar confianza en mí. Nunca podré pagar tanto apoyo de su parte en los momentos difíciles por los que pasé, estaré siempre y en la eternidad agradecida. Ha sido una figura que eternamente voy a admirar.

A Juvencio Robles, por toda su ayuda desde que llegué a Guanajuato, por concederme ser parte de su grupo de investigación y ser su alumna. Le agradezco todos los conocimientos brindados para realizar bien mi labor, sus consejos y sermones. Se ha convertido en una figura digna de admirar por su manera tan positiva y fuerte de enfrentar cualquier situación, su constancia y trabajo duro.

A Erika y Caro. Erika por brindarme su mano cuando llegué a Guanajuato. A Caro, por tu ayuda y ser cómplice de las travesuras. Sin ustedes, habrían sido muy aburridos mis días en el laboratorio.

---

# RESUMEN

---

En este trabajo se presenta el estudio con Teoría de Funcionales de la Densidad (DFT, *Density Funtional Theory*) de diversos modelos finitos de grafeno y algunos de sus derivados, así como de antioxidantes endógenos como melatonina y algunos de sus análogos, y exógenos como el ácido chicórico (CA), la curcumina y el éster fenetílico del ácido cafeico (CAPE), para formar nanovectores que ayuden a reducir el estrés oxidativo. En la primera parte del proyecto se analizó el cambio en las propiedades químicas de diversos modelos finitos de grafeno y algunos de sus derivados, como son grafeno dopado con boro (B), nitrógeno (N) o fósforo (P), grafano, fluorografeno, grafino, grafidiino y óxido de grafeno. Para ello, se usaron los descriptores globales y locales de la reactividad de la DFT Conceptual, cambios estructurales y, además, se analizó la posible toxicidad de los distintos modelos finitos de grafeno. De estos, se seleccionaron al óxido de grafeno y al fluorografeno como posibles vehículos para el transporte de antioxidantes. En la segunda y tercera parte del proyecto se analizaron distintas propiedades de los antioxidantes endógenos y exógenos, para diseñar nuevos antioxidantes que puedan frenar el estrés oxidativo. Por lo que, se calcularon los descriptores para estimar la biodisponibilidad, se calculó el valor del  $pK_a$ , la energía de solvatación, se estimó la toxicidad y mecanismos de reacción primarios como son la transferencia electrónica simple (SET) y la transferencia de átomos de hidrógeno (HAT); así como la inhibición de una enzima productora de radicales libres, xantina oxidasa. De este análisis se confirma que CAPE y CA son buenos antioxidantes. Finalmente, se diseñaron nanovectores conformados por los derivados de grafeno con los descriptores más adecuados (óxido de grafeno y fluorografeno), que responderán a estímulos redox para el transporte y liberación dirigida de los antioxidantes y, así, coadyuvar a frenar el alto estrés oxidativo que origina múltiples enfermedades.

---

# ABSTRACT

---

This research thesis presents a study within Density Functional Theory (DFT) of various finite models of graphene and some of its derivatives, endogenous melatonin and some analogs and exogenous antioxidants such as chicoric acid (CA), curcumin, and caffeic acid phenethyl ester (CAPE) to form nanovectors that help reduce oxidative stress. In the first part of the project, the change in different graphene finite models' chemical properties and some of their derivatives, such as graphene doped with boron (B), nitrogen (N), or phosphorus (P), graphane, fluorographene, graphyne, graphdiyne, and graphene oxide, were analyzed. For this purpose, we analyzed the global and local descriptors of the Conceptual DFT reactivity, structural changes, and the possible toxicity of the different graphene finite models. Graphene oxide and fluorographene were selected to be potential drug delivery vehicles for antioxidants transport. In the second and third part of this project, different endogenous and exogenous antioxidants were analyzed to design new antioxidants to stop oxidative stress. For this, chemical properties were studied through calculation of the global descriptors like, the value of  $pK_a$ , solvation energy, toxicity, and the primary reaction mechanisms such as the simple electron transfer (SET) and hydrogen atom transfer (HAT); as well as the inhibition of a free radical-producing enzyme, xanthine oxidase. According to our results, CAPE and CA are good antioxidants. Finally, nanovectors made up of selected graphene derivatives (graphene oxide and fluorographene), were designed to respond to redox stimuli for the transport and targeted release of antioxidants. Our designed nanovectors are new potential systems, thus aiding to stop the high oxidative stress that causes multiple diseases.

# CONTENIDO

<b>RESUMEN</b>	<b>7</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>8</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>20</b>
<b>CAPÍTULO I ESTRÉS OXIDATIVO Y LA NANOTECNOLOGÍA</b>	<b>22</b>
<b>I.1 Estrés Oxidativo</b>	<b>22</b>
I.1.1 Generalidades	22
I.1.2 Radicales Libres	23
I.1.3 Daño Celular y Enfermedades	28
I.1.4 Antirradicales	29
I.1.5 Mecanismos de Acción Antirradicales	35
<b>I.2 Nanobiotecnología</b>	<b>37</b>
I.2.1 Generalidades	37
I.2.2 Grafeno	37
I.2.3 Nanoacarreadores de Fármacos	39
<b>CAPÍTULO II QUÍMICA TEÓRICA Y COMPUTACIONAL</b>	<b>42</b>
<b>II.1 Generalidades</b>	<b>42</b>
I.2.1 Herramientas de la Química Computacional	43
<b>II.2 Mecánica Cuántica</b>	<b>44</b>
<b>II.3 Teoría de Funcionales de la Densidad</b>	<b>46</b>
II.3.1 Funcionales de Minnesota	49
II.3.2 DFT Conceptual	52
<b>II.4 Conjunto de Funciones Base</b>	<b>55</b>
<b>II.5 Modelos de Solvatación</b>	<b>57</b>
II.5.1 Modelo Polarizable Continuo (PCM)	58
II.5.2 Modelo de Solvatación basado en la Densidad (SMD)	59
<b>II.6 Modelos de Carga Atómica</b>	<b>59</b>
II.6.1 Método de Hirshfeld	60
<b>II.7 Potencial Electrostático Molecular</b>	<b>60</b>
<b>II.8 Métodos Híbridos QM/MM</b>	<b>61</b>
II.8.1 ONIOM	61
<b>II.9 Química Médica Computacional</b>	<b>63</b>
II.9.1 Acoplamiento Moleculares ( <i>Docking</i> )	64
II.9.2 Relación Cuantitativa Estructura-Actividad (QSAR)	67
<b>CAPÍTULO III PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	<b>69</b>
<b>III.1 Justificación</b>	<b>69</b>
<b>III.2 Hipótesis</b>	<b>70</b>
<b>III.3 Objetivos</b>	<b>70</b>
III.3.1 General	70
III.3.2 Específicos	70
<b>CAPÍTULO IV METODOLOGÍA EMPLEADA</b>	<b>72</b>
<b>CAPÍTULO V GRAFENO Y DERIVADOS DE GRAFENO</b>	<b>73</b>
<b>V.1 Introducción</b>	<b>73</b>

<b>V.2 Metodología</b>	<b>74</b>
V.2.1 Estado del Arte	75
V.2.2 Búsqueda Conformacional	76
V.2.3 Cálculo de los Descriptores Globales y Locales de la Reactividad	76
V.2.4 Estudio del Potencial Electroestático Molecular	76
<b>V.3 Resultados y Discusión</b>	<b>77</b>
V.3.1 Calibración de la Metodología	77
V.3.2 Modelos Finitos para los Derivados de Grafeno	79
V.3.3 Análisis Estructural	84
V.3.4 Variación en los Descriptores Globales de la Reactividad	90
V.3.5 Descriptores Locales de la Reactividad	93
V.3.6 Estimación de la Toxicidad	99
<b>V.4 Conclusiones</b>	<b>102</b>
<b>CAPÍTULO VI ANTIOXIDANTES DE PRODUCTOS NATURALES (EXÓGENOS)</b>	<b>105</b>
<b>VI.1 Introducción</b>	<b>105</b>
<b>VI.2 Metodología</b>	<b>107</b>
VI.2.1 Búsqueda Conformacional	107
VI.2.2 Cálculo del $pK_a$	107
VI.2.3 Variación en los Descriptores Globales de la Reactividad	108
VI.2.4 Energía de Solvatación y $\text{Log } P$	108
VI.2.5 Biodisponibilidad y Toxicidad	109
VI.2.6 Transferencia Electrónica Simple (SET)	109
VI.2.7 Transferencia de Átomos de Hidrógeno (HAT)	110
VI.2.8 Inhibición de la Xantina Oxidasa (XO)	110
<b>VI.3 Resultados y Discusión</b>	<b>111</b>
VI.3.1 Búsqueda Conformacional	113
VI.3.2 Cálculo del $pK_a$	114
VI.3.3 Variación en los Descriptores Globales de la Reactividad	116
VI.3.4 Energía de Solvatación y $\text{Log } P$	117
VI.3.5 Biodisponibilidad y Toxicidad	118
VI.3.6 Transferencia Electrónica Simple (SET)	119
VI.3.7 Transferencia de Átomos de Hidrógeno (HAT)	122
VI.3.8 Inhibición de la Xantina Oxidasa (XO)	125
<b>VI.4 Conclusiones</b>	<b>128</b>
<b>CAPÍTULO VII ANTIOXIDANTES DERIVADOS DE MELATONINA (ENDÓGENOS)</b>	<b>131</b>
<b>VII.1 Introducción</b>	<b>131</b>
<b>VII.2 Metodología</b>	<b>132</b>
VII.2.1 Búsqueda Conformacional	133
VII.2.2 Variación en los Descriptores Globales de la Reactividad	133
VII.2.3 Transferencia Electrónica Simple (SET)	133
VII.2.4 Transferencia de Átomos de Hidrógeno (HAT)	134
VII.2.5 Inhibición de la Xantina Oxidasa (XO)	134
<b>VII.3 Resultados y Discusión</b>	<b>135</b>
VII.3.1 Análisis Conformacional	137

VII.3.2 Variación en los Descriptores Globales de la Reactividad	138
VII.3.3 Energía de Solvatación y Log <i>P</i>	140
VII.3.4 Mecanismos de Acción	141
VII.3.5 Transferencia Electrónica Simple (SET)	141
VII.3.6 Transferencia de Átomos de Hidrógeno (HAT)	142
VI.3.7 Inhibición de la Xantina Oxidasa (XO)	143
<b>VI.4 Conclusiones</b>	<b>146</b>
<b>CAPÍTULO VIII DISEÑO DE NANOVECTORES PARA EL TRANSPORTE Y LIBERACIÓN MEJORADOS DE ANTIOXIDANTES</b>	<b>148</b>
<b>VIII.1 Introducción</b>	<b>148</b>
<b>VIII.2 Metodología</b>	<b>149</b>
VIII.2.1 Variación en los Descriptores Globales de la Reactividad	150
VIII.2.2 Estimación de la Toxicidad	150
<b>VIII.3 Resultados</b>	<b>151</b>
VIII.3.1 Diseño de los Nanovectores	151
VIII.3.2 Transporte y Liberación	154
VIII.3.3 Variación en los Descriptores Globales de la Reactividad Química	156
VIII.3.4 Estimación de la Toxicidad	158
<b>VIII.4 Conclusiones</b>	<b>160</b>
<b>CAPÍTULO IX CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS GENERALES</b>	<b>162</b>
<b>IX.1 Conclusiones Generales</b>	<b>162</b>
<b>IX.2 Perspectivas Generales</b>	<b>164</b>
<b>REFERENCIAS</b>	<b>165</b>
<b>APÉNDICES</b>	<b>178</b>
<b>Apéndice A: Estudio DFT del Grafeno y Derivados de Grafeno</b>	<b>178</b>
<b>Apéndice B: Antioxidantes de Productos Naturales (EXÓGENOS)</b>	<b>184</b>
<b>Apéndice C: Antioxidantes Derivados de Melatonina (ENDÓGENOS)</b>	<b>187</b>
<b>Apéndice D: Presentaciones del Trabajo en Congresos</b>	<b>191</b>
Presentaciones Orales	191
Presentación de Carteles	191
<b>Apéndice E: Artículos Publicados y en Progreso</b>	<b>192</b>
<b>Apéndice F: Otras actividades</b>	<b>193</b>

# ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> Estructura cristalizada de la xantina oxidasa (XO) con código PDB: 1FIQ. ....	27
<b>Figura 2</b> Reducción del glutatión disulfuro u oxidado (GSSH) al glutatión reducido (GSH) por el glutatión reductasa (GRx) .....	30
<b>Figura 3</b> Estructura cristalizada del glutatión reductasa (GRx) con código PDB: 1XAN. .	31
<b>Figura 4</b> Fragmento de la ruta metabólica de la melatonina (Mel). ....	32
<b>Figura 5</b> Estructura de los tautómeros de la curcumina. ....	34
<b>Figura 6</b> Estructura del ácido chicórico. ....	34
<b>Figura 7</b> Estructura del éster fenetílico del ácido cafeico (CAPE).....	35
<b>Figura 8</b> Formas de liberación de fármacos de nanomateriales para varias aplicaciones biomédicas. Imagen modificada de la referencia [14]......	39
<b>Figura 9</b> Ilustración de la escalera de Jacob de la DFT. Imagen tomada de la referencia [151]......	48
<b>Figura 10</b> Aproximación de un orbital tipo Slater con varios orbitales tipo Gaussiano. Imagen adaptada de la referencia [139]......	56
<b>Figura 11</b> Modelo de la solvatación continua, en donde el soluto M es envuelto por una constante dieléctrica $\epsilon$ que representa el solvente. ....	58
<b>Figura 12</b> Representación de las regiones del sistema real al sistema modelo empleado en las capas del modelo ONIOM. Figura adaptada de <a href="https://gaussian.com/oniom_technote/">https://gaussian.com/oniom_technote/</a> .....	63
<b>Figura 13</b> Métodos para el modelado molecular. Imagen adaptada de la referencia [187].	64
<b>Figura 14</b> Representación del <i>docking</i> entre macromolécula y ligando.....	65
<b>Figura 15</b> Diagrama del proceso de investigación realizado. ....	72
<b>Figura 16</b> Modelos finitos de a) grafeno, C <sub>96</sub> H <sub>24</sub> ; b) grafino, C <sub>66</sub> H <sub>18</sub> y c) grafidiino, C <sub>90</sub> H <sub>18</sub> . ....	75
<b>Figura 17</b> a) Modelo de grafeno C <sub>54</sub> H <sub>18</sub> y b) modelo de grafeno C <sub>96</sub> H <sub>24</sub> . Encerrados en un círculo azul se señalan los enlaces y ángulos carbono-carbono que se compararon contra los datos cristalográficos del grafito. ....	77
<b>Figura 18</b> Esquema de explicación de las etiquetas usadas para cada átomo del modelo finito seleccionado de G, C <sub>96</sub> H <sub>24</sub> . ....	80
<b>Figura 19</b> Posiciones probadas como geometrías iniciales para obtener todos los sistemas estudiados en este trabajo. En <b>azul</b> se indican las posiciones a probar de los átomos o grupos. ....	82
<b>Figura 20</b> Estructuras optimizadas con el nivel de teoría M06-2X/6-31G(d) de grafeno (G), grafino (Gi), grafidiino (Gii) y grafeno dopado mostrando valores de distancias, ángulos y grupos puntuales. En gris se muestran los átomos de C, en blanco átomos de H, en rosa átomos de B, en naranja átomos de P y en azul átomos de N. Para una ampliación de la figura, escanear el código QR. ....	85
<b>Figura 21</b> Estructuras optimizadas con el nivel de teoría M06-2X/6-31G(d) de los modelos de grafano mostrando valores de distancias, ángulos, grupos puntuales y el vector de momento dipolar. En gris se muestran los átomos de C y en blanco átomos de H. Para una ampliación de la figura, escanear el código QR. ....	86

<b>Figura 22</b> Estructuras optimizadas con el nivel de teoría M06-2X/6-31G(d) de los modelos de fluorografeno mostrando valores de distancias, ángulos, grupos puntuales y el vector de momento dipolar. En gris se muestran los átomos de C, en blanco átomos de H y en cian, átomos de F. Para una ampliación de la figura, escanear el código QR. .	87
<b>Figura 23</b> Estructuras optimizadas con el nivel de teoría M06-2X/6-31G(d) de los modelos de óxido de grafeno mostrando valores de distancias, ángulos, grupos puntuales y vector de momento dipolar. En gris átomos de C, en blanco átomos de H y rojo, átomos de O. Para una ampliación de la figura, escanear el código QR. ....	89
<b>Figura 24</b> Sistemas optimizados en el nivel de teoría M06-L/6-31G(d) de óxido de grafeno mostrando datos geométricos de los enlaces de hidrógeno. Ver descripción en el texto. ....	90
<b>Figura 25</b> Descriptores globales de la reactividad de los derivados de grafeno a nivel M06-L/6-31G(d). Los resultados en fase gas corresponden a a), b) y c); mientras que los resultados en fase agua corresponden a los incisos d), e) y f). En a) y d) se tienen las gráficas de los valores de los descriptores $I$ , $A$ y $\chi$ ; en b) y e) se tienen las gráficas de los valores de los descriptores $\omega^-$ , $\omega^+$ y $\omega$ . Los valores se pueden ver en el apéndice A y dentro del código QR.....	92
<b>Figura 26</b> Mapas de potencial electrostático molecular (MEP) para grafeno, grafino, grafidiino y grafeno dopado en el nivel de teoría M06-L/6-31G(d). El valor de la isosuperficie es de 0.0004 u.a. ....	96
<b>Figura 27</b> Mapas de potencial electrostático molecular (MEP) para grafeno, grafino, grafidiino y grafeno dopado en el nivel de teoría M06-L/6-31G(d). El valor de la isosuperficie es de 0.0004 u.a. ....	98
<b>Figura 28</b> Mapas de potencial electrostático molecular (MEP) para grafeno, grafino, grafidiino y grafeno dopado en el nivel de teoría M06-L/6-31G(d). El valor de la isosuperficie es de 0.0004 u.a. ....	99
<b>Figura 29</b> Estructura del 3,3',4,4'-tetraclorobifenilo. ....	100
<b>Figura 30</b> <i>gap</i> HOMO-LUMO y $\eta$ en fase agua de los derivados de grafeno y 3,3',4,4'-tetraclorobifenilo (bphenil) en M06-L/6-31G**/PCM.....	101
<b>Figura 31</b> Valores del momento dipolar para los derivados de grafeno, Vit C y bphenil en fase agua calculados al nivel M06-L/6-31G**/PCM. ....	102
<b>Figura 32</b> Estructuras químicas de los antirradicales estudiados en este capítulo. En color azul están los átomos de hidrógeno usados para los estudios de deshidrogenación. En las tablas se presentan los valores de la energía de disociación de enlace de un átomo de hidrógeno (D0). Todos los valores están en kcal/mol. ....	106
<b>Figura 33</b> a) Tiempo computacional en segundos de los cálculos de optimización y frecuencias para Vit A (en púrpura) y Vit E (color azul) en diferentes niveles de teoría y b) Valores de los descriptores globales para Vit A en distintos niveles de teoría en eV.....	112
<b>Figura 34</b> Confórmeros de menor energía de cada molécula en fase gas con su energía relativa ( $\Delta E_{rel}$ ) en kcal/mol en el nivel de teoría M06-2X/6-31+G*. En paréntesis, la $\Delta E_{rel}$ en el nivel de teoría B3LYP/6-31+G* en kcal/mol. En gris, se muestran los átomos de C, en blanco los átomos de H y en rojo, los átomos de O. Escanear código QR para ampliación y ver animaciones y abrir en Power Point. ....	114

- Figura 35** Valores de los descriptores globales de la reactividad química para CAPE, CA, CDK, CKE, Vit A y Vit E con el nivel de teoría M06-2X/6-31+G\*. Donde a) y b) muestran los valores en agua y, c) y d) muestran los valores en pentiletanoato. .... 116
- Figura 36** Mapas DAM de las moléculas estudiadas para: a) moléculas en fase agua y b) moléculas en pentiletanoato con el nivel de teoría M06-2X/6-31+G\*/SMD..... 120
- Figura 37** Mapas FEDAM de las moléculas estudiadas para: a) moléculas en fase agua y b) moléculas en pentiletanoato con el nivel de teoría M06-2X/6-31+G\*/SMD..... 121
- Figura 38** Mapas  $|\text{LUMO}|^2$  y mapas de potencial de ionización local de CKE, CDK, CAPE, CA, Vit A y Vit E. Las flechas negras indican los átomos que pueden aceptar o donar un electrón a RL. Para el mapa  $|\text{LUMO}|^2$  el color azul indica que átomo puede aceptar un electrón con mayor facilidad mientras que en el mapa de potencial de ionización local el color rojo indica a los átomos que podrán donar un electrón. Para ampliar la imagen utilizar el código QR anexo. .... 122
- Figura 39** Enlaces de hidrógeno para: CKE, CDK y CAPE en agua y en pentiletanoato con el nivel de teoría M06-2X/6-31+G\*. En donde ● indica un enlace débil de hidrógeno; mientras ● indica un enlace moderado de hidrógeno. En color gris se tienen a los átomos de C; en blanco, los átomos de H; y en rojo, los átomos de O..... 125
- Figura 40** Representación 2D de las poses e interacciones moleculares (con sus distancias en Å) de CKE, CKD, CAPE, CA, Vit A, Vit E, SAL y alopurinol con los residuos del sitio activo de XO. En gris átomos de C; en rojo, átomos de O; y en morado, átomos de N..... 126
- Figura 41** Poses de a) SAL, b) alopurinol, c) CAPE y d) CA en el sitio activo de XO. En el código QR se pueden ver las animaciones de las interacciones. .... 128
- Figura 42** Estructuras químicas de los antirradicales estudiados en este capítulo. En color azul y rojo están los átomos de hidrógeno usados para los estudios de deshidrogenación. En las tablas se prensan los valores de la energía de disociación de enlace de un átomo de hidrógeno (D0). Todos los valores están en kcal/mol. .... 132
- Figura 43** a) Tiempo computacional en segundos de los cálculos de optimización y frecuencias para Mel (en verde) Vit A (en púrpura) y Vit E (color azul) en diferentes niveles de teoría y b) Valores de los descriptores globales para Mel en distintos niveles de teoría en eV..... 136
- Figura 44** Geometrías optimizadas de Mel, derivados y sus análogos con enlaces de hidrógeno. En donde ● indica un enlace débil de hidrógeno; mientras ● indica un enlace moderado de hidrógeno. Distancias en Å. En gris, átomos de C; en blanco, en átomos de H; en azul, átomos de N; en rojo, átomos de O; y en cian, átomos de F..... 138
- Figura 45** Valores de los descriptores globales de la reactividad química para Mel, metabolitos y análogos con el nivel de teoría M06-2X/6-31+G\*. Donde a) y b) muestran los valores en agua y, c) y d) muestran los valores en pentiletanoato. .... 139
- Figura 46** Mapas DAM de las moléculas estudiadas para: a) moléculas en fase agua y b) moléculas en pentiletanoato, con el nivel de teoría M06-2X/6-31+G\*/SMD..... 141
- Figura 47** Mapas FEDAM de las moléculas estudiadas para: a) moléculas en fase agua y b) moléculas en pentiletanoato, con el nivel de teoría M06-2X/6-31+G\*/SMD..... 142
- Figura 48** Representación 2D de las poses e interacciones moleculares de Mel, metabolitos, análogos, SAL y alopurinol con los residuos del sitio activo de XO. En gris átomos de

C, en rojo átomos de O; en morado, átomos de N; y en cian, átomos de F. Usar código QR para una ampliación de la imagen.....	144
<b>Figura 49</b> Poses de a) SAL, b) alopurinol, c) Ir y d) It en el sitio activo de XO. ....	146
<b>Figura 50</b> Capa de fluorografeno funcionalizada covalentemente con etilendiamina (EDA). Imagen extraída de la referencia [265]. ....	149
<b>Figura 51</b> Capas y <i>link atoms</i> para los nanovectores de a) óxido de grafeno (modelo G-F) y b) fluorografeno (modelo G-FR5) con el éster fenetílico del ácido cafeico (CAPE). Escanear el código QR, para visualizar mejor los nanovectores. ....	150
<b>Figura 52</b> Esquema para la funcionalización del óxido de grafeno (G-F) para obtener los nanovectores OG-CAPE y OG-AC. Ver descripción en el texto. Escanear código QR para ampliar la imagen. ....	152
<b>Figura 53</b> Esquema para la funcionalización del óxido de grafeno (G-F) para obtener los nanovectores OG-CAPE y OG-AC. Ver descripción en el texto. ....	153
<b>Figura 54</b> Representación general del transporte y liberación de antirradicales unidos a nanomateriales mediante endocitosis respondiendo al estímulo redox. Ver descripción de este proceso en la descripción del texto. ....	154
<b>Figura 55</b> Esquema de la etapa I para el óxido de grafeno. ....	155
<b>Figura 56</b> Esquema de la etapa I para el fluorografeno. ....	156
<b>Figura 57</b> Esquema de la etapa II. ....	156
<b>Figura 58</b> Descriptores globales de la reactividad calculados para los nanovectores y residuos a nivel teoría ONIOM M06-2X/6-31*G(d)//M06-2X/6-31G//M06-2X/6-31G//SMD. Los resultados en fase agua corresponden a los incisos a) y c); mientras que los resultados en fase pentiletanoato corresponden a los incisos b) y d). En a) y b) se tienen las gráficas de los valores de los descriptores $I$ , $A$ y $\chi$ ; en c) y d) se tienen las gráficas de los valores de los descriptores $\omega^-$ , $\omega^+$ y $\omega$ . ....	158
<b>Figura 59</b> <i>gap</i> HOMO-LUMO y $\eta$ de los nanovectores, vitamina E (Vit E) y 3,3',4,4'-tetraclorobifenilo (bphenil) en a) agua y b) en pentiletanoato en M06-2X/6-31*G(d)//M06-2X/6-31G//M06-2X/6-31G//SMD. ....	159
<b>Figura 60</b> Valores del momento dipolar para los derivados de grafeno, Vit C y bifenilo en a) agua y b) pentiletanoto en M06-2X/6-31*G(d)//M06-2X/6-31G//M06-2X/6-31G//SMD. ....	160

# ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1</b> Fuentes endógenas y exógenas para la producción de radicales libres o ROS.....	26
<b>Tabla 2</b> Análisis de errores (RMSD) de las distancias carbono-carbono y ángulos de los modelos C <sub>54</sub> H <sub>18</sub> y C <sub>96</sub> H <sub>24</sub> contra los datos cristalográficos del grafito.....	78
<b>Tabla 3</b> Funciones condensadas de Fukui y blandura local (en eV <sup>-1</sup> ) de grafenos y sus derivados calculados en el nivel de teoría M06-L/6-31G(d) en fase gas. ....	95
<b>Tabla 4</b> Potencial de ionización vertical ( <i>I</i> ) calculada en eV para Vit A con diferentes niveles de teoría y % de error absoluto entre el <i>I</i> calculado y el valor de <i>I</i> experimental. ....	113
<b>Tabla 5</b> Primeros valores de p <i>K</i> <sub>a</sub> y fracciones molares de las especies neutras ( <i>m</i> <i>f</i> <sub>neutral</sub> ) y aniónicas ( <i>m</i> <i>f</i> <sub>anion</sub> ) a pH=7.4 para Vit A, Vit E, CKE, CDK, CA y CAPE a estado estándar 1 M. ....	115
<b>Tabla 6</b> Valores de Log <i>P</i> y energía de Gibbs de solvatación ( $\Delta G_{solv}^{\circ}$ ) para cada molécula en el nivel de teoría M06-2X/6-31+G*/SMD. ....	118
<b>Tabla 7</b> Descriptores moleculares, LD <sub>50</sub> oral en ratas y mutagenicidad de Ames (M) para CAPE, CA, CDK, CKE y los controles Vit A, Vit E, Vit C, DDT y pipobroman.....	119
<b>Tabla 8</b> Átomos estudiados para el mecanismo de transferencia de átomos de hidrógeno en cada molécula. Esta tabla muestra el número de átomos reactivos con cada RL. En paréntesis se muestra, para cada reacción los átomos reactivos que van ordenados del más exergónico al menos.....	124
<b>Tabla 9</b> Valores para la energía de unión, eficiencia de ligando y la constante de inhibición para cada molécula. ....	127
<b>Tabla 10</b> Potencial de ionización vertical ( <i>I</i> ) calculado en eV para Mel con diferentes niveles de teoría y % de error absoluto entre el <i>I</i> calculado y el valor de <i>I</i> experimental. ....	137
<b>Tabla 11</b> Primeros valores de p <i>K</i> <sub>a</sub> y fracciones molares de las especies neutras ( <i>m</i> <i>f</i> <sub>neutral</sub> ) y aniónicas ( <i>m</i> <i>f</i> <sub>anion</sub> ) a pH=7.4 para Mel, derivados y análogos a estado estándar 1 M. ....	137
<b>Tabla 12</b> Valores de Log <i>P</i> y energía libre de solvatación ( $\Delta G_{solv}^{\circ}$ ) para cada molécula en el nivel de teoría M06-2X/6-31+G*/SMD. ....	140
<b>Tabla 13</b> Átomos estudiados para el mecanismo de transferencia de átomos de hidrógeno en cada molécula. Esta tabla muestra el número de átomos activos con cada RL, en paréntesis se muestra el orden de la reacción más exergónica a la menos exergónica. ....	143
<b>Tabla 14</b> Valores para la energía de unión, eficiencia de ligando y la constante de inhibición para cada molécula. ....	145

# LISTA DE ABREVIATURAS

bphenil	3,3',4,4'-tetraclorobifenilo
6OHM	6-hidroximelatonina
HBA	Aceptores de enlaces de hidrógeno
CA	Ácido chicórico
HOCL	Ácido hipocloroso
SAL	Ácido salicílico
RSOH	Ácidos sulfénico
ADMET	Administración, distribución, metabolismo, excreción y toxicidad
$I$	Afinidad electrónica vertical
AGL	AG Lamarckiano
AG	Algoritmos genéticos
$ONOO^-$	Anión peroxinitrito
AO	Antirradicales libres
PSA	Área superficial polar
S	Blandura química global
CAT	Catalasa
MTE	Cofactor de molibdopterina
$\epsilon$	Constante dieléctrica
CKE	Curcumina forma ceto-enol
CDK	Curcumina forma dicetona
$\bullet NO_2$	Dióxido de nitrógeno
HDB	Donadores de enlaces de hidrógeno
DOX	Doxorrubicina
$\eta$	Dureza química global
$\chi$	Electronegatividad
$D_0$	Energía de disociación para un átomo de hidrógeno
nRB	Enlaces rotables
ROS	Especies reactivas de oxígeno
RNS	Especies reactivas de nitrógeno
RSS	Especies reactivas de azufre
CAPE	Éster fenético del ácido cafeico
EO	Estrés oxidativo
EDA	Etilendiamina
RAF	Reacción de formación de aductos
$f_j^-$	Fukui electrofílica
$f_j^+$	Fukui nucleofílica
GSSG	Glutación oxidado
GPx	Glutación peroxidasa
GSH	Glutación reducido
GRx	Glutación reductasa
G-FR3	Grafeno con 24 átomos de F
G-HR3	Grafeno con 24 átomos de H

G-FR5	Grafeno con 54 átomos de F
G-HR5	Grafeno con 54 átomos de H
G-F	Grafeno con tres grupos -OH, un >O y un -COOH
G-4H	Grafeno con cuatro átomos de H
G-4F	Grafeno con cuatro átomos de F
G-2F	Grafeno con dos átomos de F
G-2H	Grafeno con dos átomos de H
G-A	Grafeno con dos grupos -OH
G-D	Grafeno con dos grupos -OH y un >O
G-E	Grafeno con dos grupos -OH, un >O y un -COOH
G-FR1	Grafeno con seis átomos de F
G-HR1	Grafeno con seis átomos de H
G-1F	Grafeno con un átomo de F
G-1H	Grafeno con un átomo de H
G-O	Grafeno con un grupo >O
G-COOH	Grafeno con un grupo -COOH
G-OH	Grafeno con un grupo -OH
G-C	Grafeno con un grupo -OH y >O
G-B	Grafeno con un grupo -OH y -COOH
G2B	Grafeno dopado con 2 átomos de B
G2N	Grafeno dopado con 2 átomos de N
G2P	Grafeno dopado con 2 átomos de P
GB	Grafeno dopado con un átomo de B
GN	Grafeno dopado con un átomo de N
GP	Grafeno dopado con un átomo de P
Gii	Grafidiino
Gi	Grafino
HF	Hartree-Fock
ROOR'	Hidroperóxido
HOMO	Orbital molecular más alto ocupado
$\omega$	Índice de electrofilicidad
$\omega^-$	Índice potencia electrodonadora
$\omega^+$	Índice potencia electroaceptora
LUMO	Orbital Moléculas más bajo desocupado
CM	Mecánica clásica
QM	Mecánica cuántica
Mel	Melatonina
PM3	Método de parametrización 3
AM1	Modelo de Austin 1
SMD	Modelo de solvatación basado en la densidad
IM	Modelo intermedio
*NO	Monóxido de nitrógeno
AMK	N1-acetil-5-metoxiquinuramina
AFMK	N1-acetil-N2-formil-5-metoxiquinuramina
NOX	NADPH oxidasa
NBO	Orden de enlace natural

NADPH	Nicotiamida-adenina dinucleótido fosfato
nAtom	Número de átomos
OG	Óxido de grafeno
$RS(O)_2SR$	Óxido de disulfuro
$^1O_2$	Oxígeno singlete
$H_2O_2$	Peróxido de hidrógeno
MW	Peso molecular
PEI	Polietilenamina
PEG	Polietilenglicol
$I$	Potencial de ionización vertical
MEP	Potencial electrostático molecular
$A$	Potencial químico
QC	Química Computacional
QT	Química Teórica
QTC	Química Teórica-Computacional
$O_2^{\bullet-}$	Radical anión superóxido
$\bullet OOH$	Radical hidroperoxilo
$\bullet OH$	Radical hidroxilo
$LOO\bullet$	Radical lipoperoxil
$RO\bullet$	Radicales alcoxilo
RL	Radicales libres
$ROO\bullet$	Radicales peroxilo
$RS\bullet$	Radicales tiilo
AMR	Refractividad molar
QSAR	Relación Cuantitativa Estructura-Actividad
R	Sistema real (método ONIOM)
SOD	Superóxido dismutasa
DFT	Teoría de Funcionales de la Densidad
PCM	Teoría de medio continuo polarizable
HAT	Transferencia de átomos de hidrógeno
PCET	Transferencia de electrones acoplados a protones
SET	Transferencia electrónica simple
SET-PT	Transferencia secuencial electrón-protón
SPLET	Transferencia secuencial protón-electrón
Vit A	Vitamina A
Vit C	Vitamina C
Vit E	Vitamina E
XO	xantina oxidasa
RMSD	Raíz de la desviación cuadrática media
FEDAM	Mapa total donador-aceptor de electrones
DAM	Mapa donador-aceptor

---

# INTRODUCCIÓN

---

El incremento de las enfermedades propiciadas por un exceso de radicales libres ha generado un gran interés por tratarlas o reducir su aparición. Algunas de dichas enfermedades son: el cáncer [1], enfermedades cardiovasculares [2, 3], artritis reumatoide [4], Alzheimer [5–7], Parkinson [5–7] y la insuficiencia renal crónica [8]. Como se sabe, los radicales libres se producen de manera natural en el organismo y se incrementa su producción por la contaminación ambiental, el humo del cigarro, la radiación UV, pesticidas, entre otras [9]. Uno de los métodos que comenzaron a tomar mayor popularidad fue la terapia antioxidante, que consiste en tomar moléculas antioxidantes (antirradicales). Esta técnica tiene como propósito el consumo de moléculas antirradicales para neutralizar a los radicales libres y así evitar la aparición de las distintas enfermedades. Por tal razón, diversos grupos de investigación se han enfocado en el descubrimiento y desarrollo de un sin número de moléculas que presenten mejores propiedades como antirradicales.

Los antirradicales se presentan de manera natural en el cuerpo, como por ejemplo la melatonina [10], que es una hormona que actúa como antioxidante endógeno, además, presenta otras importantes funciones como regular el ciclo circadiano (reloj biológico). Además, los antirradicales se pueden encontrar de manera exógena en frutas, verduras y plantas, además se han sintetizado algunas moléculas con este fin [11]. Sin embargo, no todos los antirradicales exógenos son capaces de atravesar con éxito las barreras fisiológicas [12], por ello se ha propuesto que las nanopartículas a base de grafeno podrían transportar y liberar eficientemente a estos antirradicales.

Desde hace tiempo, como parte de la biomedicina, se han empleado nanopartículas y otros dispositivos nanoestructurados que permiten disminuir la dosis de los fármacos, puesto que estos dispositivos permiten que los fármacos lleguen intactos y se localicen sobre el sitio activo de la diana biológica [13, 14].

El objetivo de este trabajo es estudiar *in silico* el grafeno y algunos derivados de grafeno como el grafeno dopado, el grafano, el óxido de grafeno, el grafino, el grafidiino y el fluorografeno y su funcionalización con moléculas orgánicas antirradicales para

transportarlos y liberarlos de manera eficiente en células con alto estrés oxidativo. Este estudio se realizó en el contexto de la Química Teórica y Computacional (QTC), empleando DFT. De esta manera, se reduce costo y tiempo para la propuesta de nuevos antirradicales que puedan ser mejores que los ya reportados y de nanopartículas que podrían transportarlos de manera eficiente.

---

# CAPÍTULO I

## ESTRÉS OXIDATIVO Y LA NANOTECNOLOGÍA

---

### I.1 ESTRÉS OXIDATIVO

#### I.1.1 Generalidades

Las células están expuestas a la acción de sustancias oxidantes también llamadas radicales libres (RL), que tienen su origen en procesos bioquímicos celulares como la generación de energía en las mitocondrias [9]. Los RL pueden ser definidos como un átomo o molécula con uno o más electrones desapareados en su capa de valencia lo que los hace altamente reactivos, inestables y de vida corta. Lo anterior los hace que reaccionen con las macromoléculas de las células, como las proteínas, lípidos y ácidos nucleicos para obtener estabilidad. Los RL son compuestos electrofílicos como las especies reactivas de oxígeno (ROS, *reactive oxygen species*), nitrógeno (RNS, *reactive nitrogen species*) y de azufre (RSS, *reactive sulphur species*)[11, 15].

Los diferentes RL pueden originar reacciones en cadena de tipo óxido-reducción o redox sobre las macromoléculas cercanas. A este fenómeno se le llama estrés oxidativo (EO). Cuando este fenómeno ocurre, el cuerpo humano y otros organismos aeróbicos han desarrollado defensas antioxidantes para protegerse. Dichas defensas antioxidantes pueden ser endógenas (enzimas antioxidantes, glutatión reducido, ácido úrico, etc.) y sustancias exógenas ingeridas en los alimentos, como vitaminas y flavonoides [16, 17]. Estos últimos juegan un papel importante en el control del daño oxidativo, ya que funcionan como agentes profilácticos, es decir, ayudan a prevenir la aparición de enfermedades.

El desequilibrio entre la cantidad de RL y antioxidantes o mejor llamados antirradicales libres (AR), conlleva a la aparición de enfermedades crónico-degenerativas como el cáncer [1] y enfermedades cardio-vasculares [2, 3]. La elevada cantidad de RL surge por factores casi imposibles de evitar como la contaminación ambiental. Por lo que el consumo de antioxidantes, sería esencial para evitar las enfermedades anteriores [18]. El EO

es el resultado de una alteración del equilibrio entre la cantidad de RL producidos y la cantidad de AR que frenan las reacciones en cadena de los RL. El EO no causa síntomas específicos que permitan su reconocimiento por medio de análisis clínicos comunes. Es importante mencionar que el EO no implica únicamente daño celular, sino que también es importante para la función y regulación celular como se verá más adelante.

### I.1.2 Radicales Libres

Los RL son sustancias inestables y muy reactivas que para conseguir estabilidad reaccionan con moléculas a las que les sustraen electrones y las oxidan, generando con ellos la aparición de nuevos RL [9]. Esto crea una reacción en cadena que daña a las células a menos que sea bloqueada por los AR. Existen distintos tipos de radicales libres, en primer lugar se encuentran los más abundantes, los ROS en segundo lugar, están las RNS y por último las menos abundantes, RSS [15]. De los que se tienen a los siguientes RL (algunos de ellos se estudiaron en este trabajo):

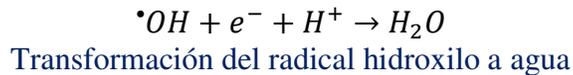
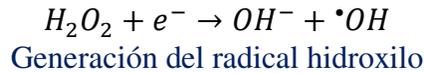
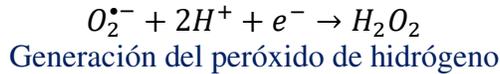
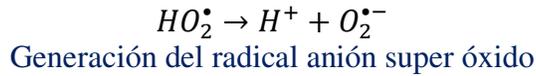
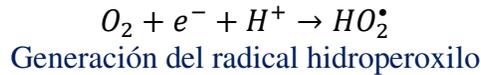
- Especies reactivas de oxígeno (ROS). Son radicales centrados en oxígeno como el radical hidroxilo ( $\cdot OH$ ), radicales alcoxilo ( $RO\cdot$ ), radicales peroxilo ( $ROO\cdot$ ), el radical hidropoxilo ( $\cdot OOH$ ) y el radical anión superóxido ( $O_2^{\cdot -}$ ).
- Especies reactivas de nitrógeno (RNS). Son centrados en nitrógeno como el anión peroxinitrito ( $ONOO^-$ ), el monóxido de nitrógeno ( $\cdot NO$ ) y dióxido de nitrógeno ( $\cdot NO_2$ ).
- Especies reactivas de azufre (RSS). Las más comunes son los radicales tiilo ( $RS\cdot$ ), los ácidos sulfónicos ( $RSOH$ ) y los óxidos de disulfuro ( $RS(O)_2SR$ ).

#### Generación

Los RL se generan de diversas rutas metabólicas de las células como la respiración, así como por la exposición a infecciones microbianas, la activación de fagocitos, el ejercicio físico, por la acción de toxinas o contaminantes como el humo del cigarro, alcohol, radiación UV, pesticidas, ozono y procesos regulados por enzimas como las oxidasas [16]. En el proceso aeróbico que emplea el oxígeno para oxidar las biomoléculas que contienen carbono e hidrógeno para producir energía química y calor, el oxígeno molecular se reduce paulatinamente a una serie de especies intermedias: radical hidropoxilo, anión radical

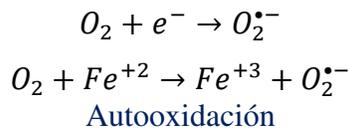
## ESTRÉS OXIDATIVO Y LA NANOTECNOLOGÍA

superóxido,  $H_2O_2$ , anión hidroxilo y radical hidroxilo, que se obtienen de la siguiente secuencia:

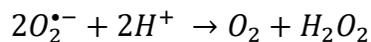


A continuación, se detallan sobre los RL libres que se estudiaron en este trabajo.

El  $O_2^{\bullet-}$  es el más importante ROS formado por procesos enzimáticos, autooxidación y por reacciones de transferencia electrónica no enzimática [9, 16].

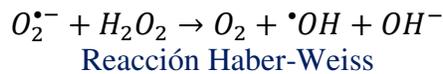
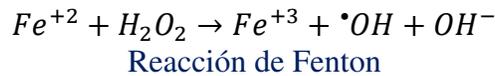


Es principalmente producido en la mitocondria y su reactividad con las biomoléculas es baja. Las enzimas (oxidasas) productoras del  $O_2^{\bullet-}$  son la xantina oxidasa (XO) [19], la lipooxigenasa, la ciclooxigenasa [20] y la NADPH (nicotinamida adenina dinucleótido fosfato) así como puede ser formada en la cadena de transporte electrónico mitocondrial [21]. Esta es capaz de atacar centros de carga positiva y puede reaccionar como agente oxidante con donantes de hidrógeno (ascorbato y tocoferol). El  $O_2^{\bullet-}$  puede disolverse produciendo oxígeno molecular y peróxido de hidrógeno:



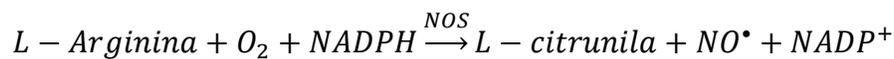
## ESTRÉS OXIDATIVO Y LA NANOTECNOLOGÍA

El  $\cdot OH$  es un radical altamente agresivo, responsable por el daño de la mayoría de las biomoléculas [22]. Este puede interactuar con la mayoría de las moléculas orgánicas e inorgánicas (ADN, proteínas, lípidos, aminoácidos, azúcares y metales) causando más daño severo a las células que otros ROS [23]. Este es el resultado de reacciones tipo Fenton, en el cual el  $H_2O_2$  reacciona con iones metálicos ( $Fe^{+2}$  o  $Cu^+$ ), comúnmente unidos a distintas proteínas [24]. Bajo condiciones de alto EO el  $O_2^{\cdot-}$  libera Fe de la proteína ferritina (FTH1) para participar en las reacciones Fenton. También, se forma por la reacción entre el  $O_2^{\cdot-}$  y el  $H_2O_2$  en una reacción llamada Haber-Weiss [25].



El radical  $ROO\cdot$ , este se forma por la protonación del  $O_2^{\cdot-}$  [26]. Cerca del 0.3% del  $O_2^{\cdot-}$  se encuentra en su forma protonada. Este puede iniciar la peroxidación de ácidos grasos y puede promover el desarrollo de tumores [27].

$\cdot NO$  y  $\cdot NO_2$  tienen pares de electrones desapareados y pueden ser considerados como RL [22]. El  $\cdot NO$  es biosintetizado de la L-arginina, oxígeno y la NADPH por enzimas como la sintasa de óxido nítrico (NOS) o por la reducción de nitrato inorgánico.



$\cdot NO$  es un gas encargado de la vasodilatación y neurotransmisión [16]. También es excretado por los fagocitos como resultado del sistema inmune. Éste puede reaccionar con el  $O_2^{\cdot-}$  dando al  $ONOO^-$ , una especie altamente reactiva y oxidante contra varias moléculas biológicas [9, 16]. A su vez, el  $ONOO^-$  puede ser descompuesto para dar radicales  $\cdot OH$  o reaccionar con  $H_2O_2$  y ácido hipocloroso (HOCl) para formar el  $N_2O_3$ , el  $NO_2^-$  y el  $NO_3^-$ .

Las fuentes de los RL incluyen diferentes órganos celulares [9] (fuentes endógenas) tales como la mitocondria, peroxisomas y retículo endoplasmático así como fuentes exógenas que se resumen en la **Tabla 1**. En la mitocondria se producen la mayoría de los ROS,

## ESTRÉS OXIDATIVO Y LA NANOTECNOLOGÍA

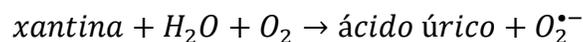
principalmente el  $O_2^{\bullet-}$  que se produce en dos sitios principales de la cadena de transporte de electrones. La generación de  $O_2^{\bullet-}$  es enzimática y, por tanto, a mayor tasa metabólica mayor es la producción de ROS [28]. En los peroxisomas (llamados así por su habilidad para producir  $H_2O_2$ ), la vía respiratoria implica la transferencia de electrones de varios metabolitos al oxígeno que conducen a la formación del  $H_2O_2$ . En los peroxisomas se produce  $H_2O_2$ ,  $O_2^{\bullet-}$ ,  $\bullet OH$  y  $\bullet NO$  [9]. En los peroxisomas las enzimas productoras de ROS se encuentran la acil coenzima A (acil-CoA), la D-aminoácido oxidasa (DAAO), la urato oxidasa, la D-aspartato oxidasa y la XO [29]. En el retículo endoplasmático las enzimas que contribuyen a la formación de ROS son el citocromo p-450, citocromo b5 y la diamina oxidasa [30]. Por último, se tienen otras fuentes endógenas que se muestran en la **Tabla 1** y fuentes exógenas que resultan difíciles de controlar.

**Tabla 1** Fuentes endógenas y exógenas para la producción de radicales libres o ROS.

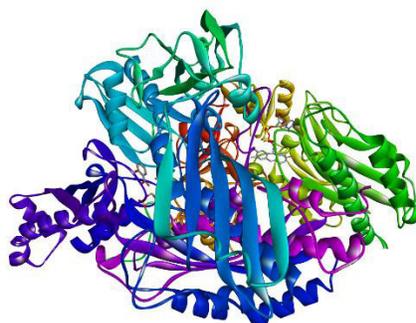
Fuentes endógenas [30]	Fuentes exógenas [11]	
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Mitocondria</li> <li>▪ Peroxisomas (xantina oxidasa)</li> <li>▪ Retículo endoplasmático</li> <li>▪ Síntesis de prostaglandinas</li> <li>▪ Autooxidación de adrenalina</li> <li>▪ Fagocitosis</li> <li>▪ Activación de células inmunes</li> <li>▪ Inflamación</li> <li>▪ Estrés mental</li> <li>▪ Ejercicio excesivo</li> <li>▪ Infecciones</li> <li>▪ Cáncer</li> <li>▪ Envejecimiento</li> <li>▪ Isquemia</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Contaminación ambiental</li> <li>▪ Alcohol</li> <li>▪ Humo de tabaco</li> <li>▪ Metales de transición (Cd, Hg, Pb, As)</li> <li>▪ Metales pesados (Fe, Cu, Co, Cr)</li> <li>▪ Solventes industriales</li> <li>▪ Pesticidas</li> <li>▪ Altas temperaturas</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Luz ultravioleta</li> <li>▪ Cocina (carne ahumada, aceite usado, grasas)</li> <li>▪ Fármacos (halotano, paracetamol, bleomicina, doxorubicina, etanol, metronidazol, <math>CCl_4</math>)</li> </ul>

### *Xantina oxidasa*

Como se puede ver, existen diversas enzimas productoras de RL, pero no a todas se les puede inhibir su función, ya que estas cumplen funciones importantes dentro de la célula, por lo que la XO es, dentro de todas, la que menos problemas representaría. La enzima XO, **Fig. 1**, cataliza la oxidación de hipoxantina a xantina y puede catalizar aún más la oxidación de xantina a ácido úrico, generando  $O_2^{\bullet-}$ . Cada subunidad contiene un cofactor de molibdopterina y un cofactor FAD que cataliza la oxidación de la hipoxantina a xantina [31].



La XO genera significativas cantidades de ROS, por lo que representa una importante fuente de RL. Entonces, la inhibición de la XO ha resultado ser un recurso para reducir la cantidad de RL [32, 33].



**Figura 1** Estructura cristalizada de la xantina oxidasa (XO) con código PDB: 1FIQ.

### Función Celular

A bajas concentraciones, los RL participan en distintas funciones benéficas en las células. Dentro de estas funciones está la defensa contra infecciones, mensajeros en las respuestas celulares, la eliminación o apoptosis de células defectuosas, procesos de maduración celular, regulación de receptores de insulina, etc. [34, 35] Se ha sugerido que los RL podrían ser agentes importantes en los sistemas biológicos por su rol en su señalización redox [36]. Cuando están en óptimas concentraciones, los RL ayudan a mantener la homeostasis redox en el ambiente celular que regula la función celular, la señalización celular y las respuestas a estímulos endógenos y exógenos [37]. El balance entre la generación y eliminación de ROS/RNS por las enzimas/moléculas antioxidantes ayuda a la señalización de las proteínas para su función correcta [38].

Los ROS generados por enzimas como la mieloperoxidasa y la NADPH oxidasa (NOX), también conocida como fagocito oxidasa, ayudan a los neutrófilos a realizar su función fagocítica contra la intrusión microbiana. Así mismo, NOX cataliza al  $\text{O}_2^{\bullet-}$  para formar al  $\text{H}_2\text{O}_2$  que, con ayuda del superóxido dismutasa (SOD), se obtiene al HOCl que funciona como un fuerte bactericida [39]. Otro caso es el de  $\bullet\text{NO}$  que funciona como

mensajero intercelular para la modulación del flujo sanguíneo, la trombosis y la actividad neural [40]. También funciona para matar patógenos intracelulares y tumores, y para inducir la respuesta mitogénica (división o proliferación celular) [41]. Como se puede ver los RL participan como intermediarios en reacciones bioquímicas, en respuestas celulares (señalización celular, defensa contra microorganismos patógenos y en la inducción de la respuesta mitogénica) y en diversas enfermedades.

### I.1.3 Daño Celular y Enfermedades

Cuando hay una alta concentración de RL el proceso de envejecimiento se acelera y pueden aparecer distintas enfermedades del tipo crónico-degenerativas como el cáncer [1], enfermedades cardio-vasculares [2, 3], artritis reumatoide [4], Alzheimer [5–7], Parkinson [5, 7], insuficiencia renal crónica [8], asma [42], trastornos oculares [43], etc. Otras enfermedades relacionadas son metabólicas, como la diabetes [5, 44]. Como se ha mencionado, los RL reaccionan con todas las clases importantes de moléculas (ácidos nucleicos, proteínas y lípidos) de las células quitándoles un electrón, lo que las oxida y conduce a la pérdida de la función celular [37].

Entre los mayores efectos nocivos producidos por las ROS, se encuentra la oxidación de los lípidos, proceso que induce la desnaturalización y afecta la viabilidad de las células. Los RL pueden desencadenar la oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados de las membranas celulares, por el secuestro de un átomo de hidrógeno de la cadena de metilenos de estas estructuras. El radical formado reacciona con el oxígeno y forman el radical lipoperoxil ( $LOO^{\bullet}$ ) altamente reactivo. Esto es un ejemplo de una reacción en cadena de las que pueden producir los RL, por ello la importancia de frenarlos.

Los RL,  $^{\bullet}OH$ ,  $NO_2^{\bullet}$ ,  $HOO^{\bullet}$  y  $CH_3O^{\bullet}$ , estudiados en el presente trabajo tienen efectos importantes en el daño celular. El  $^{\bullet}OH$  es el más reactivo y por lo tanto el más dañino [45]. Su reactividad es tan alta que es capaz de atacar a casi cualquier molécula que se encuentre en las cercanías de su sitio de formación. Se ha estimado que este radical es responsable de alrededor del 60-70% del daño que sufren los tejidos cuando son expuestos a radiaciones ionizantes y el responsable de los daños más importantes al ADN [46, 47]. Los radicales  $ROO^{\bullet}$  son menos reactivos que el  $^{\bullet}OH$ , lo que hace que tengan vidas medias más largas [48]

y puedan llegar a sitios más remotos [49]. Por otro lado, los radicales  $RO^{\bullet}$  tienen una reactividad intermedia entre la del  $^{\bullet}OH$  y la de los  $ROO^{\bullet}$ . De los RNS, la reactividad de  $^{\bullet}NO$  es relativamente baja y por lo tanto también su toxicidad [50], pero cuando reacciona con el  $O_2^{\bullet-}$  produce  $ONOO^-$  [51], que es un potente oxidante y muy dañino, capaz de reaccionar con lípidos, proteínas y ADN. El  $^{\bullet}NO_2$  es más reactivo que el  $^{\bullet}NO$  pero menos que el  $ONOO^-$ . Mientras que la reactividad de las RSS es menor que ROS y RNS, aunque sí pueden producir daño a las proteínas [52, 53].

### I.1.4 Antirradicales

En condiciones normales, los AR que el cuerpo libera neutralizan las alteraciones causadas por los RL, debido a que previenen o retardan la oxidación actuando como blancos sacrificables [30]. La efectividad de un antirradical para atrapar RL depende de su estructura y de la de los RL, por lo que es importante el conocimiento detallado de las reacciones con los RL que se quieren atrapar, los cuales pueden actuar atrapando radicales libres o activando proteínas protectoras contra la oxidación. Estos son mecanismos de acción que se clasifican como primarios, secundarios y terciarios. Los AR se pueden encontrar de manera endógena o de manera exógena.

#### Antirradicales Endógenos

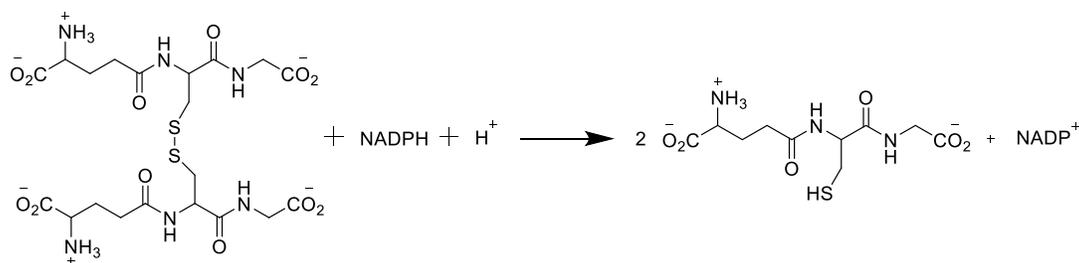
Los AR endógenos (generados *in situ*) pueden ser enzimáticos o no enzimáticos [11, 18]. Estos actúan como primera defensa cuando hay una alta cantidad de RL. Dentro de los enzimáticos se encuentran la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT), el glutatión peroxidasa (GPx) y el glutatión reductasa (GRx) [41, 54, 55]. La SOD es la primera línea de defensa contra los RL, cataliza la dismutación del  $O_2^{\bullet-}$  en  $H_2O_2$  por reducción. Luego, viene la transformación del  $H_2O_2$  en agua y oxígeno molecular por CAT o por GPx. El GPx elimina al  $H_2O_2$  usándolo para oxidar el glutatión reducido (GSH) en glutatión oxidado (GSSG). Consecutivamente, el GRx regenera GSH a partir de GSSG, con NADPH como fuente de poder reductor [37, 41, 54, 55].

Los no enzimáticos se pueden dividir en metabólicos y exógenos. Los metabólicos son aquellos producidos por el metabolismo celular como el ácido lipoico, el GSH, la L-arginina, la coenzima Q10, la melatonina (Mel), el ácido úrico, la bilirrubina, etc. [37, 54].

*Glutación reducido*

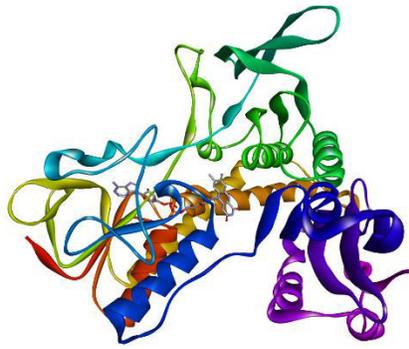
Para entender el diseño y cómo será la liberación de los fármacos de los nanodispositivos es necesario conocer sobre las moléculas y enzimas que se encargarán de tal función. Primeramente, se debe mencionar que las reacciones tiol-disulfuro son las reacciones redox más importantes a nivel biológico. Estas reacciones son catalizadas por una base y se propone que proceda a través de una reacción SN2. Las moléculas involucradas en estas reacciones son el GSH, GSSH y GRx, como se muestra en la reacción de la **Fig. 2**.

El GSH es considerado como la molécula endógena más abundante de defensa contra el EO [56]. El GSH es un tripéptido reducido constituido por  $\gamma$ -L-glutamato, L-cisteína y glicina, **Fig. 2**. Este puede donar un electrón con la consecuencia de que dos moléculas de GSH forman al GSSG oxidado. Se encuentra en concentraciones altas entre (1-10 mM) principalmente en el citosol. Este principio de diferencia de concentraciones es el usado para que el nanodispositivo entre a la célula. El GSH es también un cofactor y sustrato de las glutarredoxinas (GRXs), que catalizan la reducción del disulfuro en presencia del NADPH y GRx [37, 41, 54, 55].



**Figura 2** Reducción del glutatión disulfuro u oxidado (GSSH) al glutatión reducido (GSH) por el glutatión reductasa (GRx)

El GRx, **Fig. 3**, es una flavoenzima que cataliza la reducción del glutatión oxidado a glutatión reducido el cual será utilizado por GPx para la reducción de  $H_2O_2$  y de  $LOO^\bullet$ . Se encuentra en diferentes tejidos y órganos [56].

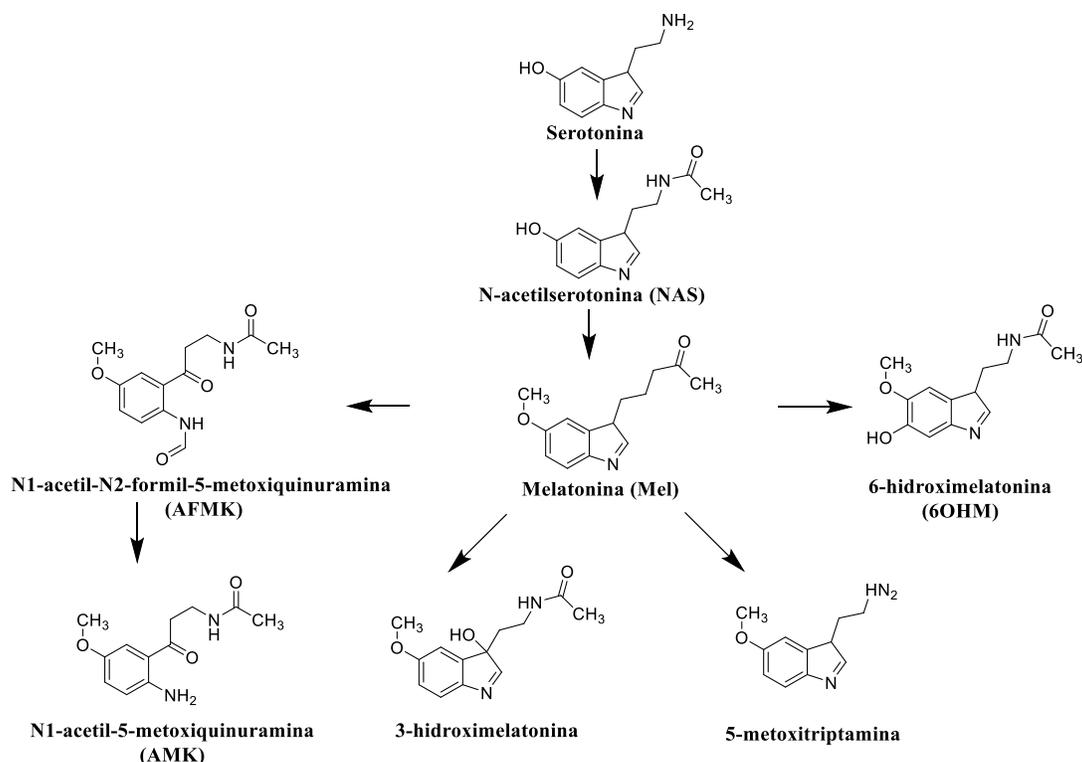


**Figura 3** Estructura cristalizada del glutatión reductasa (GRx) con código PDB: 1XAN.

La alteración en la proporción 2GSH/GSSG es una medida del EO que sufre la célula; cuando los niveles de GSH disminuyen debido a la oxidación y formación de disulfuros de GSH, lo que resulta en una disminución en la proporción de GSH a GSSG y GSSG indica un alto EO [1].

### *Melatonina*

Los AR estudiados en este trabajo son la Mel y tres de sus metabolitos, de los que se hablará un poco de ellos. La Mel, producto secretado de la glándula pineal y múltiples células y órganos, es un antioxidante anfifílico que es capaz de eliminar especies tanto oxigenadas como nitrogenadas, como el  $\cdot OH$ , el  $H_2O_2$ , el  $O_2^{\cdot -}$ , el HOCl, el oxígeno singulete ( $^1O_2$ ), el  $\cdot NO$  y el  $ONOO^-$  [57, 58]. De la Mel se derivan distintos metabolitos que tienen actividad antirradical importante. En la **Fig. 4**, se muestra un fragmento de la ruta metabólica de la Mel, para más detalles ver la referencia [10].



**Figura 4** Fragmento de la ruta metabólica de la melatonina (Mel).

La familia de Mel presenta división de tareas, algunos son eficientes en el mecanismo tipo I mientras que otros son principalmente quelantes de metales [59]. NAS y 6OHM presentan el mecanismo tipo I mientras que AFMK es principalmente quelante de metales. AMK es un buen y versátil AR del tipo I ante ROS y RNS. Se ha encontrado que AFMK preserva la integridad del ADN cuando se expone a agentes oxidantes. Para conocer sobre los posibles mecanismos de acción que presentan Mel y sus metabolitos ante los RL se han realizado estudios teórico-computacionales que evalúan los mecanismos SET, HAT y RAF, SEPT, PCET (se mencionarán más adelante) con los RL  $HOO^{\bullet}$ ,  $Cl_3COO^{\bullet}$  [60–62].

### Antirradicales Exógenos

Los antioxidantes exógenos son aquellos que no se producen en el cuerpo. Estos pueden dividirse en naturales y sintéticos [11]. Dentro de los naturales se encuentran los polifenoles (presentes en uvas y por lo tanto en el vino, también en el chocolate); los carotenos (presentes en frutos y vegetales coloreados como las zanahorias, el tomate y frutos rojos); los ácidos fenólicos (presentes en el té y café); el tirosol y el hidroxitirosol (aceite de oliva), el ácido

ascórbico, también conocido como vitamina C (presente en los cítricos); la vitamina E (presente en el brócoli) y muchos otros [16, 18]. Algunos ejemplos de antioxidantes sintéticos son los galatos, la N-acetilcisteína y su amida, el edaravone (y sus derivados), el hidroxinasol butilado, el hidroxitolueno butilado y la etoxiquina. Todos estos han llegado a ser utilizados para frenar el EO.

El uso de suplementos antioxidantes demuestra su eficacia si el nivel de EO inicial está por encima de lo normal o por encima del punto de ajuste de regulación del individuo [63]. Por tanto, los suplementos antioxidantes pueden reducir los niveles elevados de EO que las fuentes endógenas no pueden inactivar [18]. Por este motivo, se han realizado estudios para obtener nuevos antirradicales que puedan disminuir el EO, algunas de las nuevas propuestas son la curcumina, el ácido chicórico (CA) y el éster fenético del ácido cafeico (CAPE).

### *Curcumina*

La curcumina es un compuesto fenólico extraído del rizoma de la *Curcuma longa linn*, este se utiliza como sazonador y colorante en los alimentos [64]. Es un antioxidante que inhibe la peroxidación lipídica, es antioxidante del tipo I que decrece la formación de compuestos inflamatorios. Ha sido usado como antiinflamatorio, antiviral, contra pancreatitis [65, 66], contra enfermedades cardiovasculares [67], supresor de los síntomas de la diabetes tipo II [68], artritis reumatoide [69], Alzheimer [70, 71] y como antioxidante [72, 73]. Se debe señalar que aunque presenta buenas propiedades contra distintas enfermedades se deben usar distintas formulaciones para superar sus problemas de biodisponibilidad [12]. Se han realizado estudios experimentales y teóricos para determinar sus propiedades antioxidantes [73]. Dentro de los cuales, se tienen ensayos experimentales para evaluar su capacidad para atrapar RL como el DPPH<sup>I</sup>, ABTS<sup>II</sup>, DMPD<sup>III</sup>, como quelante de metales, su capacidad para atrapar radicales libres como el  $O_2^{\bullet-}$  y  $H_2O_2$ , entre otros más [73]. Dentro de los trabajos

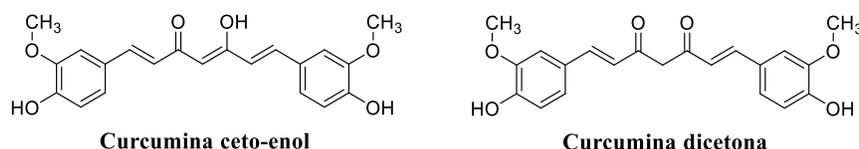
---

<sup>I</sup> Ensayo DPPH. Este estudio evalúa la actividad antioxidante usando el RL 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH<sup>\*</sup>). Se utiliza para determinar la capacidad antioxidante de alimentos y compuestos sintéticos.

<sup>II</sup> Ensayo ABTS. Es otro estudio de actividad antioxidante que, al igual que el ensayo DPPH, cuantifica la decoloración del radical 2,2'-azino-bis(3-etil benzotiazolina-6-ácido sulfónico) (ABTS<sup>+</sup>), debido a la interacción con especies donantes de hidrógeno o de electrones.

<sup>III</sup> Ensayo DMPD. Método para evaluar la actividad antioxidante usando una disolución de dicloridrato de N,N-dimetil-p-fenilendiamina (DMPD).

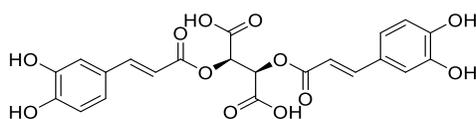
teórico-computacionales encontrados se tiene la evaluación de la energía de disociación de enlaces de hidrógeno ( $D_o$ ) para evaluar la transferencia de átomos de hidrógeno (HAT) [74], de los dos tautómeros de la curcumina, **Fig. 5**. Así como la transferencia electrónica simple (SET), la formación de aductos (RAF), HAT y la transferencia secuencial protón-electrón (SPLET) ante el RL  $CH_3O^\bullet$  [75].



**Figura 5** Estructura de los tautómeros de la curcumina.

### Ácido chicórico

El CA, **Fig. 6**, se obtiene de la *Echinacea purpurea*, una hierba medicinal, y de las hojas de la albahaca, *Ocimum basilicum* [76, 77], hojas de diente de león, toronjil y de plantas acuáticas, incluidas algas. Se han reportado estudios para su uso en el tratamiento del VIH [78], tratamiento de la diabetes [79] y como antioxidante [80]. Para evaluar sus propiedades antioxidantes se han usado los ensayos DPPH, FRAP<sup>IV</sup>, CUPRAC<sup>V</sup> y recientemente, mecanismos de acción como HAT, SPLET y quelante de metales en trabajos teórico-experimentales [81].



**Figura 6** Estructura del ácido chicórico.

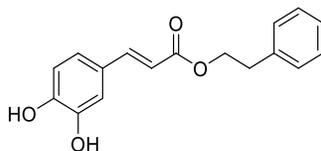
### Éster fenético del ácido cafeico

CAPE, **Fig. 7**, es un compuesto químico polifenólico presente en el propóleo de las colmenas de las abejas [82]. Se han reportado estudios para su uso como antimicrobial

<sup>IV</sup> Ensayo FRAP. El método FRAP consiste en la reducción del hierro férrico (Fe+3) presente en el reactivo de FRAP hasta la forma ferrosa (Fe+2) por presencia de antioxidantes.

<sup>V</sup> Ensayo CUPRAC. Mide la capacidad de reducción antioxidante del cobre.

[83], antiinflamatorio [84], antitumoral [85], neuroprotector [86] y antioxidante [87]. Recientemente, se han evaluado mecanismos de acción como HAT, SPLET y quelante de metales en trabajos teórico-experimentales [81].

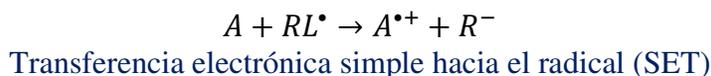
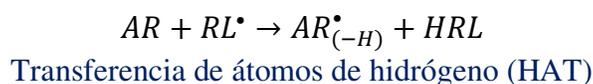
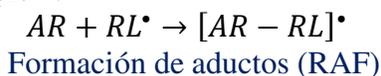


**Figura 7** Estructura del éster fenetílico del ácido cafeico (CAPE)

### I.1.5 Mecanismos de acción antirradicales

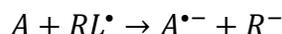
Los AR se pueden clasificar por su mecanismo de acción como primarios (tipo I), secundarios (tipo II) o terciarios (tipo III). Los primarios son rompedores de cadenas, reaccionan directamente con los RL dando especies menos reactivas o terminando las cadenas de reacción. Estos son conocidos como atrapadores de radicales libres (*free radical scavengers*). Los secundarios no reaccionan directamente con los RL, dentro de ellos se tiene la quelación de metales, la reparación de AR primarios, descomposición del hidroperóxido (ROOR') en especies no radicalarias, desactivación del  $O_2^{\bullet-}$  y absorción de radiación UV. Los terciarios reparan a las biomoléculas dañadas por la oxidación. Algunos AR pueden ser clasificados como multifuncionales si ellos pueden comportarse como tipo I y/o tipo II y/o tipo III [88]. Del tipo I, se tienen los siguientes mecanismos de acción (algunos de ellos se obtuvieron para los AR evaluados):

Elementales con un paso simple<sup>VI</sup>:



<sup>VI</sup> De donde, (-H) significa que se ha removido un átomo de hidrógeno.

## ESTRÉS OXIDATIVO Y LA NANOTECNOLOGÍA

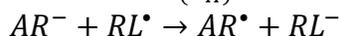


Transferencia electrónica simple desde el radical (SET)

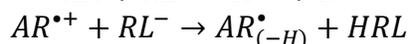
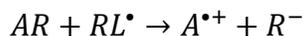


Transferencia de electrones acoplados a protones (PCET)

Con múltiples pasos:



Transferencia secuencial protón-electrón (SPLET)



Transferencia secuencial electrón-protón (SET-PT)

Ejemplos de AR con estos mecanismos de acción se pueden encontrar en el trabajo de Galano [88]. Para proponer un buen antirradical, se ha propuesto que el antioxidante ideal debe tener las siguientes características [89]:

- **Versátil.** Que el antirradical sea capaz de reaccionar eficientemente con una amplia gama de RL o actuar como antioxidante primario y secundario.
- **Barreras biológicas.** Debe ser capaz de atravesar las barreras biológicas y de transportarse rápidamente a las células.
- **Disponibilidad.** Debe estar disponible, por lo que es necesario que sea consumido en la dieta, como suplemento alimentario o producido endógenamente.
- **Distribución.** Debe estar ampliamente distribuido en el organismo y presente en cantidades suficientemente altas.
- **Tiempo de vida medio alto.** No debe de excretarse rápidamente por la orina.
- **Regeneración.** Debe ser viable para la regeneración (puede ser regenerado por otro AR, por 2 RL o que sus metabolitos tengan actividad antirradical).
- **Toxicidad.** No debe ser tóxico ni antes ni después de reaccionar con los RL.
- **Cadena de reacción.** Debe terminar la cadena de reacción radicalaria o formar productos de reacción mucho menos reactivos que los RL.

Estas características se evaluaron en este trabajo para proponer nuevos AR que puedan frenar el EO con herramientas de la Química Computacional que se verán en el capítulo II.

### I.2 NANOBIOOTECNOLOGÍA

#### I.2.1 Generalidades

Es una técnica multiestratégica que combina la nanotecnología y la biotecnología para diseñar dispositivos nanoescalados (nanodispositivos) para la liberación de fármacos [90]. El nanodispositivo o nanomaterial tendrá dimensiones y propiedades controladas siendo capaz de acarrear varias biomoléculas (pequeñas y grandes), esto le permite su eficacia para el diagnóstico y tratamiento de distintas enfermedades como el cáncer hasta el actual COVID-19 [91]. El desarrollo de los nanomateriales se basa en la liberación de las sustancias activas bajo estímulos específicos como pH, potencial redox, temperatura, enzimas, etc. [92].

La nanotecnología enfrenta desafíos de cómo diseñar el nanomaterial para administrar el fármaco en el lugar adecuado y en el momento adecuado. Una nanopartícula se define como partícula con un tamaño inferior a 1  $\mu\text{m}$  y puede consistir en diferentes materiales. Dentro de las desventajas de estas nanopartículas está la difícil producción, almacenamiento y administración, pero dentro de las ventajas es su capacidad para atravesar la membrana celular como en el tracto gastrointestinal [93].

Los materiales más reportados en la literatura para el transporte y liberación de fármacos son las nanopartículas poliméricas en las que los fármacos se conjugan o encapsulan en polímeros (quitosan), micelas, dendrímeros, liposomas, nanotubos de carbono, entre otros. [94]. Con el descubrimiento del grafeno en el 2004 [95], muchos grupos de investigación centraron sus miradas en el grafeno, para usarlo como un nanomaterial en varias aplicaciones biomédicas. Así en el 2008, el grupo de Dai y colaboradores sintetizaron el óxido de grafeno (OG) con aplicaciones de transporte de fármacos [96]. Es por ello, que el grafeno y sus derivados es el material propuesto para transportar a moléculas antirradicales en este trabajo.

#### I.2.2 Grafeno

El carbono tiene alótropos con distintas características, dentro de los cuales el grafeno es uno de ellos [97]. El grafeno es una placa de dos dimensiones con carbonos de hibridación  $sp^2$  unidos formando hexágonos. El descubrimiento de este nuevo material en la Universidad de Manchester del Reino Unido por Andre Geim y Konstantin Novoselov que produjeron,

aislaron, identificaron y caracterizaron, lo convirtieron en el objeto de estudio de diversas investigaciones, esto les otorgó el Premio Nobel de Física del 2010 [98]. Este es la base estructural de varios alótopos de carbono tales como son el grafito, fulerenos y nanotubos de carbono [97].

El grafeno ha recibido la atención por sus propiedades térmicas, mecánicas y electrónicas que le ha permitido ser usado en diversas aplicaciones [99–102]. El grafeno posee estructuras y geometrías únicas que le otorgan propiedades fisicoquímicas relevantes, dentro de las que se pueden nombrar excelentes conductividades eléctricas y térmicas, alta resistencia ante la fractura, rápida movilidad de transportadores de carga y una gran área superficial [103]. Debido a estas propiedades se ha usado en celdas solares [104, 105] por su bajo costo, flexibilidad y alta eficiencia fotovoltaica; en baterías de ion litio [106] mejorando el rendimiento electroquímico; en supercapacitores [107] por su buena conductividad eléctrica; en el área de catálisis [108] debido a su gran área superficial y propiedades de balística y electrónica; y en diversas aplicaciones biológicas como transportador de fármacos.

### Derivados de Grafeno y Aplicaciones

Del grafeno se han derivado nuevos materiales nanocarbonados con interesantes propiedades [109], como el grafeno hidrogenado (grafano), grafeno hidrogenado solo por un lado (grafona), grafeno fluorado (fluorografeno), grafeno oxidado (OG, tiene una mezcla de varios grupos funcionales como alcoholes (-OH), éteres (-O-), epoxi (>O), cetonas (=O), lactonas (-O=O)) y ácidos carboxílicos (-COOH)), grafino (unidades de benceno enlazadas por una cadena acetilénica) y grafidiino (unidades de benceno unidos por dos cadenas acetilénicas) y grafitriino (unidades de benceno unidas por tres cadenas acetilénicas).

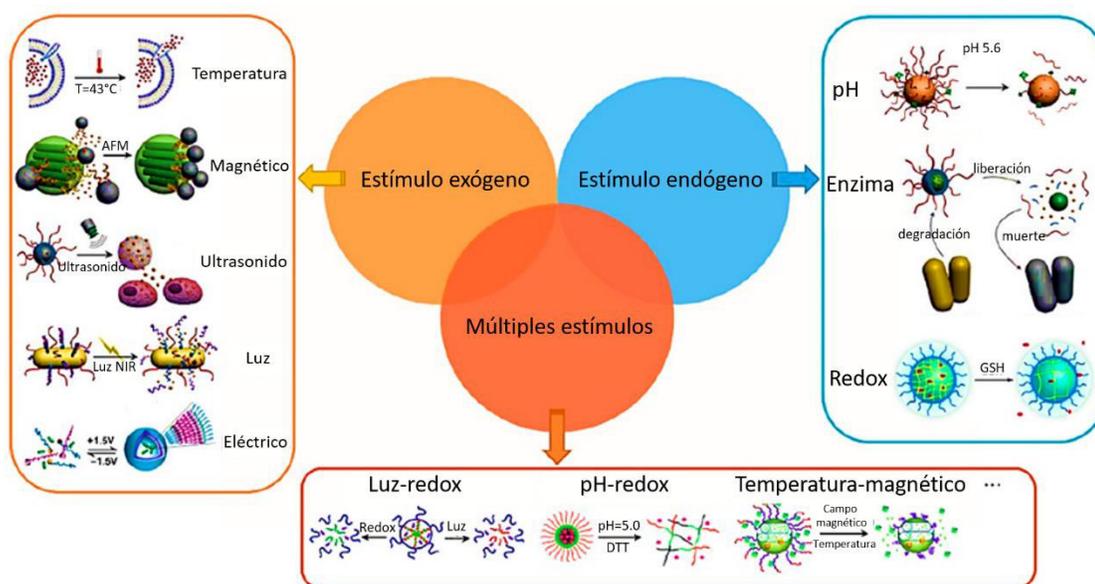
El grafano y fluorografeno tienen aplicaciones como captura de hidrógeno, biosensores, supercapacitores y en aplicaciones biológicas [110–112]. Mientras que el OG se ha usado como biosensores, en liberación de fármacos, como antibacteriano y para imágenes biomédicas [113]. El grafino posee una mayor variedad de tamaños de poros, por ello, se ha utilizado como membrana de separación [114]. Grafidiino exhibe propiedades fascinantes como dureza extrema, alta resistencia térmica y semiconductividad [115]. Por lo tanto, se ha utilizado en aplicaciones de almacenamiento de energía [116].

## Uso en la Biomedicina

El grafeno y sus derivados se han usado en diversas aplicaciones biomédicas como biosensores [117, 118], nanoacarreadores de fármacos y genes [119–121], imagenología celular y fototerapia del cáncer [122], biomarcadores para diagnóstico de cáncer [123], en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas [124], entre otras. En este trabajo los nanomateriales se han diseñado para ser nanoacarreadores de antioxidantes como fármacos contra el EO y así coadyuvar a frenar las distintas enfermedades ocasionadas por este.

### I.2.3 Nanoacarreadores de Fármacos

El uso de nanomateriales como portadores de medicamentos ya sea que estén unidos de forma covalente o no covalente, permite la administración controlada de medicamentos a través de estímulos exógenos como la temperatura, campos magnéticos, campos eléctricos y luminosos o endógenos como el pH, la concentración de enzimas [125] y estímulos redox, **Fig. 8**. Esto permite aumentar la biodisponibilidad [13] y capacidad del fármaco para cruzar las membranas celulares y reducir la dosis del fármaco, lo que permite reducir sus efectos secundarios [14].



**Figura 8** Formas de liberación de fármacos de nanomateriales para varias aplicaciones biomédicas. Imagen modificada de la referencia [14].

En el caso de los nanotransportadores desarrollados en este trabajo, estos fueron diseñados para responder a estímulos redox. Como se mencionó anteriormente, durante el EO se generan altas cantidades de GSH. Normalmente, GSH se encuentra en el citoplasma en rangos de 2 a 10 mM, mientras que en la sangre se tienen de 2 a 10  $\mu$ M, pero cuando la célula tiene elevado estrés oxidativo o es cancerosa los niveles de GSH se cuadruplican. Al tener dicha diferencia de concentración el nanomaterial será dirigido hacia la alta concentración de GSH, liberándose el fármaco allí por la ruptura de enlaces disulfuro. Los enlaces disulfuro en la sangre y en los entornos de microoxidación extracelular son extremadamente estables. En las células, los enlaces disulfuro experimentan reacciones de oxidación-reducción con glutatión y, por lo tanto, pueden promover la liberación de fármacos a través de nanoportadores [126]. Por lo tanto, la cantidad de fármaco liberada en el sitio del tumor es mayor que la liberada en otros sitios y la velocidad de liberación es más rápida [14, 126].

### Funcionalización de Materiales de Grafeno con Fármacos

Para la funcionalización hay dos enfoques: unión covalente basada en enlaces químicos y no covalente [127]. La funcionalización no covalente mejora la solubilidad sin alterar a la estructura electrónica y es fácil de implementar. Esta se hace por la adsorción directa mediante apilamiento (*stacking*)  $\pi$ - $\pi$ , interacciones de van der Waals o enlaces de hidrógeno [128].

La funcionalización covalente es un método eficaz para adaptar las propiedades del grafeno. En el caso del OG los grupos funcionalizados al grafeno le permiten unirse covalentemente a otras moléculas. Esta unión química puede estar mediada por el acoplamiento directo o por *crosslinkers*. Los *crosslinkers* son moléculas orgánicas puente, las más utilizadas son polietilenglicol (PEG) y polietilenamina (PEI) confiriéndole solubilidad en agua [14] y cierta selectividad a blancos biológicos [13]. Algunos ejemplos son la funcionalización del nanomaterial OG con PEG para el transporte de doxorubicina (DOX), un fármaco usado en quimioterapias [129]. Así mismo, OG-PEG ha sido usado para transportar Paclitaxel en el tratamiento de cáncer [130]. Otro caso es OG con PEI unidos mediante la formación de enlaces amida para transportar DOX en células HeLa [131]. Este

tipo de funcionalización del grafeno garantiza una alta dispersabilidad en disolventes fisiológicos.

### Administración y Excreción

Una vez que el grafeno o sus derivados sean inyectados o administrados por diferentes vías se dirigen a ciertos órganos. En general se ha visto a los nanomateriales de OG con PEG, inyectados intravenosamente distribuirse en diferentes órganos como el estómago, pulmón, riñón e intestino. La mayoría se encuentra en el hígado y el bazo y, persiste durante más de 4 horas [132, 133]. Por vía intratraqueal permanece en los pulmones hasta por más de 3 meses [134]. Cuando hay un tumor presente, hay mayor permeabilidad y retención de los nanomateriales. La manera de entrar a la célula depende del tamaño de los nanomateriales.

La vía principal para que los nanomateriales de grafeno entren es la endocitosis mediada por caveolas [135]. Cuando se trata de ser eliminados del cuerpo, los nanomateriales de grafeno utilizan las vías renales y fecales [136]. En dónde las partículas más grandes se eliminan preferentemente por las heces y las más pequeñas por la orina.

### Toxicidad

Se han reportado distintos estudios sobre la evaluación de la biodistribución mencionada anteriormente y la toxicidad. Dentro de ellos es relevante la evaluación de la toxicidad de los nanomateriales en mamíferos de laboratorio, como es el OG, en dónde se ha visto que los de tamaño grande (750-1300 nm) son más tóxicos que los de tamaño pequeño (50-350 nm). Por otro lado, se debe mencionar que los polímeros PEG y PEI ayudan a reducir la toxicidad de los nanomateriales y ayudan a su biodistribución [137]. Así que la reactividad superficial, el tamaño y el estado de dispersión juegan un papel importante en la inducción de toxicidad y biodistribución [138].

---

# CAPÍTULO II

## QUÍMICA TEÓRICA Y COMPUTACIONAL

---

### II.1 GENERALIDADES

La Química Computacional (QC) es una rama de la Química, que hace uso de programas de cómputo para el estudio de sistemas químicos mediante la aplicación de métodos matemáticos y numéricos avanzados derivados de la Química Teórica (QT), y no en el desarrollo de nuevos métodos teóricos como sí lo hace la QT. La QT es un subcampo donde los métodos matemáticos son combinados con leyes fundamentales de la Física para estudiar procesos de relevancia química. La combinación es conocida como Química Teórica-Computacional [139, 140]. Con ayuda de la QTC se puede reducir el tiempo y costo para el descubrimiento de nuevos sistemas con determinada actividad deseada y el estudio de propiedades como geometrías moleculares, estados de transición, reactividad química, espectros de IR, UV y RMN, la interacción sustrato-enzima, propiedades físicas de sustancias, entre otras. [141].

Debido a los avances tecnológicos, a programas y sofisticados equipos de cómputo de alto rendimiento como los presentes en México: el clúster de supercómputo Xiuhcóatl en el Cinvestav, el equipo de supercómputo Miztli en la UNAM, Yoltla en la UAM-Iztapalapa y Pípila en la Universidad de Guanajuato, se pueden realizar estudios más avanzados y de sistemas más grandes por un mayor número de investigadores. Gracias a estas facilidades, cada vez es más accesible usar las herramientas de la QC.

Debido a la facilidad para usar algunos programas amigables de QC, muchas personas emplean metodología de QC sin conocimiento de los más básicos conceptos que se involucran en los cálculos realizados, por lo que su trabajo resulta ser en gran parte desenfocado [140]. Uno de los principales problemas de la QC es seleccionar un nivel de teoría que sea adecuado para el problema dado y que permita dar resultados de calidad [139].

Aunado a la selección del nivel de teoría que, básicamente consiste en la manera en cómo se va a describir el sistema, se tiene al llamado problema de muchos cuerpos llevando a que los métodos computacionales puedan producir soluciones aproximadas. El problema de muchos cuerpos se refiere a que se pueden tener las soluciones exactas para sistemas de dos partículas, pero cuando se tienen más de dos partículas no se puede resolver mediante métodos analíticos [139]. Aunque hoy en día gracias a la inteligencia artificial se está más cerca de resolver este problema [142].

Para realizar la descripción del sistema de manera adecuada, la forma matemática depende de la masa y velocidad de las partículas. La Mecánica Newtoniana que hace uso de la segunda ley de Newton ( $\mathbf{F} = m\mathbf{a}$ ), se aplica para partículas macroscópicas y lentas. Esta teoría falló en explicar la emisión electromagnética conocido como la catástrofe del ultravioleta, por lo que se presentó la necesidad de formular una nueva teoría que permitiera explicar este fenómeno, de ahí surge la Mecánica Cuántica (QM, *Quantum Mechanics*). Entonces, cuando la velocidad comienza a ser cercana a la velocidad de la luz y la masa comienza a ser relativamente más pequeña y empieza a tener efectos relativistas, se emplea la QM. Por lo tanto, están los métodos regidos por la Mecánica Clásica (determinista<sup>VII</sup>) y los de la Mecánica Cuántica (determinista con interpretación probabilística). La Mecánica Clásica (CM, *Classical Mechanics*) determina la posición y el tiempo de una partícula, mientras que la Mecánica Cuántica da la probabilidad de en dónde puede estar la partícula en un cierto tiempo [139].

### I.2.1 Herramientas de la Química Computacional

Los métodos utilizados para la descripción de las propiedades de sistemas moleculares pueden ser de la CM, la Mecánica Molecular (MM) y de la QM, los métodos *ab initio* (del latín que significa «a primeros principios»), los métodos semiempíricos y métodos de DFT. Los empleados en este trabajo se describirán brevemente en las siguientes secciones para entender los principios de los cálculos empleados.

---

<sup>VII</sup> Determinista quiere decir que la ecuación de Newton puede ser integrada sobre el tiempo y puede predecir dónde están las partículas en un cierto tiempo.

## II.2 MECÁNICA CUÁNTICA

La QM es la descripción matemática correcta del comportamiento de la materia a escala microscópica y en consecuencia de la Química. En teoría, la QM puede predecir cualquier propiedad de un átomo individual o de una molécula. Las formulaciones de la QM fueron ideadas por Schrödinger y Heisenberg [143]. La ecuación de Schrödinger independiente del tiempo es:

$$\hat{H} \Psi = E \Psi \quad (2.1)$$

En donde  $\hat{H}$  es el operador Hamiltoniano,  $\Psi$  es la función de onda y  $E$  es la energía. Esta ecuación es conocida como una ecuación propia; en donde la  $\Psi$  es la función propia y  $E$  es el valor propio. La  $\Psi$  es la descripción probabilística del comportamiento de un electrón (como onda) y está en función del electrón y de sus posiciones nucleares. De tal manera que, describe la probabilidad de en dónde están los electrones, pero no puede predecir exactamente en dónde están localizados. El  $\hat{H}$  se describe como:

$$\hat{H}_{total} = \hat{T}_n + \hat{T}_e + \hat{V}_{ne} + \hat{V}_{ee} + \hat{V}_{nn} \quad (2.2)$$

Dado que esto es difícil de resolver, se utiliza la aproximación de Born-Oppenheimer. Esta es una de las aproximaciones fundamentales de la QM. Indica el desacoplamiento de las variables lentas y rápidas, es decir, entre los núcleos y los electrones. A los núcleos se les asignan posiciones fijas y el movimiento de los electrones se da en torno a los núcleos fijos, determinado por la ecuación de Schrödinger. Esto conduce a que la función de onda electrónica dependa de las posiciones nucleares, pero no de sus velocidades (se pueden considerar fijos y tratar como parámetros). Bajo estas consideraciones, el  $\hat{H}$  total se separa para obtener un  $\hat{H}$  electrónico. En consecuencia, la ecuación de Schrödinger constará de  $E$  y  $\Psi$  electrónicos.

El  $\hat{H}$  electrónico, suficiente para describir lo que se estudia es este trabajo, simplificado por la aproximación de Born-Oppenheimer y en unidades atómicas, está dado por la siguiente ecuación (ver más detalles en la referencia [139]):

## ESTRÉS OXIDATIVO Y LA NANOTECNOLOGÍA

$$\hat{H} = \sum_i^{\text{electrones}} \frac{\nabla_i^2}{2} - \sum_i^{\text{núcleos}} \sum_j^{\text{electrones}} \frac{Z_i}{r_{ij}} + \sum_{i<j}^{\text{electrones}} \sum \frac{1}{r_{ij}} = \hat{T} + \hat{V} + \hat{V}_{ee} \quad (2.3)$$

$$\nabla_i^2 = \frac{\partial^2}{\partial x_i^2} + \frac{\partial^2}{\partial y_i^2} + \frac{\partial^2}{\partial z_i^2} \quad (2.4)$$

En donde  $\nabla_i^2$  es el operador laplaciano actuando sobre la partícula  $i$  (núcleo o electrón).  $r_{ij}$  es la distancia entre las partículas  $i$  y  $j$ . El primer término ( $\hat{T}$ ) es la energía cinética de solo los electrones. El segundo ( $\hat{V}$ ) es la atracción de los electrones hacia el núcleo. El tercero es la repulsión entre los electrones ( $\hat{V}_{ee}$ ) [143].

Otra aproximación importante es la de Hartree-Fock (HF). HF se usa para aproximar la ecuación de Schrödinger debido al problema de muchos cuerpos, con el promedio de la repulsión entre los electrones. En este se emplea la  $\Psi$  antisimétrica para describir el estado fundamental de un sistema de  $N$  electrones como un determinante de Slater para los orbitales monoeléctricos ( $\chi(\vec{r})$ ):

$$\Psi = \frac{1}{\sqrt{N!}} \begin{vmatrix} \chi_1(\vec{r}_1) & \cdots & \chi_N(\vec{r}_1) \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ \chi_1(\vec{r}_N) & \cdots & \chi_N(\vec{r}_N) \end{vmatrix} \quad (2.5)$$

Esta aproximación cuenta ~99% de la energía total, pero no cuenta la energía de correlación electrónica que es muy importante para propósitos químicos.

Para resolver la ecuación de Schrödinger existen los siguientes métodos:

- **Métodos *ab initio*.** Estos resuelven la ecuación de Schrödinger para una molécula, a partir de la ecuación de onda para proporcionar la energía del sistema y la  $\Psi$ . Los cálculos con métodos *ab initio* son relativamente lentos (por lo tanto, costosos). Estos métodos no incluyen parámetros obtenidos de datos experimentales [141].
- **Métodos semiempíricos.** Utilizan expresiones matemáticas de tipo *ab initio*, pero realizan aproximaciones para no llevar a cabo integrales complicadas, lo que reduce costos, en comparación con los métodos *ab initio*. Estas aproximaciones usan algunos datos experimentales o parametrización de los datos experimentales dentro de los métodos [141]. Algunos de los más comunes son el método Hückel (uno de los

primeros y más simples), el método extendido de Hückel, el método de Pariser-Parr-Pople (PPP), el método *complete neglect of differential overlap* (CNDO), el modelo de Austin 1 (AM1) muy común para compuestos orgánicos, generalmente predice mejores calores de formación que los demás métodos. También está el método de parametrización 3 (PM3), este usa las mismas ecuaciones que AM1 con parámetros mejorados y es muy común para compuestos orgánicos, ya que predice mejores energías de enlaces de hidrógeno y ángulos de enlace [143].

- **Métodos de DFT.** Están basados en la ecuación de Schrödinger, pero no calcula la convencional  $\Psi$ , sino que deriva directamente la distribución de los electrones (función de densidad electrónica,  $\rho(x, y, z)$ ). Una ventaja es que la densidad es una magnitud mucho más simple que la  $\Psi$  y, por lo tanto, es más fácil de calcular que la hace más accesible para sistemas mucho más complejos, utilizando una sola variable en lugar de tres espaciales y dos angulares. Estos son más rápidos que los *ab initio* y más lentos que los semiempíricos [143].

## II.3 TEORÍA DE FUNCIONALES DE LA DENSIDAD

Es un método muy popular debido a que es menos costoso que los *ab initio* con una exactitud similar. La premisa detrás de la DFT es que la energía de una molécula puede ser determinada por la densidad electrónica,  $\rho(x, y, z)$  en lugar de la  $\Psi$  [144]. Esta idea comenzó con los trabajos de Thomas y Fermi en 1920 [145–148] en dónde por consideraciones estadísticas se podía aproximar la distribución electrónica en un electrón, dando origen a la ec. 2.6.

$$E_{TF}[\rho] = T_{TF}[\rho] + E_{ne}[\rho] + J[\rho] \quad (2.6)$$

En donde  $E_{TF}[\rho]$  es la función de la energía dependiente de la densidad ( $\rho$ ) de Thomas-Fermi;  $T_{TF}[\rho]$  es la energía cinética dependiente de la densidad de Thomas-Fermi;  $E_{ne}[\rho]$  es la energía de atracción núcleo-electrón y  $J[\rho]$  son los términos de la repulsión electrón-electrón.

Posteriormente, los teoremas de Hohenberg-Kohn mostraron que el modelo de Thomas-Fermi podía ser considerado como una aproximación para lo que se conoce como DFT, que es una teoría exacta. Los teoremas establecen que todas las propiedades del estado

fundamental de un átomo o molécula son determinadas por su función de densidad electrónica,  $\rho$ . Estos teoremas reducen el problema de muchos cuerpos. La aplicación práctica fue desarrollada por Kohn y Sham [149], en dónde la densidad electrónica es una combinación lineal de funciones de base similares a la forma matemática de HF, ec. 2.5. Esta es la base de la DFT actual. Entonces, se forma un determinante de orbitales llamados orbitales de Kohn-Sham, usados para calcular la energía.

Kohn y Sham asumieron que, para cualquier sistema real interactuante con la densidad de estado fundamental, siempre existe un sistema no interactuante con la misma densidad de estado fundamental. La clave de la teoría de Kohn-Sham es calcular la energía cinética bajo la suposición de electrones no interactuantes. Como se mencionó, HF provee el ~99% de la información, por lo que la diferencia entre la energía cinética correcta y la construida mediante los orbitales no interactuantes es pequeña. Lo que resta de la energía cinética se añade al término de intercambio para dar una energía de correlación e intercambio,  $E_{xc}$ . En la DFT la expresión de la energía tiene la siguiente forma:

$$E_{DFT}[\rho] = T_s[\rho] + E_{ne}[\rho] + J[\rho] + E_{xc}[\rho] \quad (2.7)$$

$$E_{xc}[\rho] = (T[\rho] - T_s[\rho]) + (E_{ee}[\rho] - J[\rho]) \quad (2.8)$$

En donde  $T_s$  es la energía cinética calculada del determinante de Slater ajustada para un sistema de electrones no interactuantes.  $E_{xc}$  es la parte que queda después de restar la energía cinética que no interactúa a la energía cinética exacta,  $E_{ne}$  es la energía núcleo electrón y  $J$  es la energía coulombica. La energía de correlación e intercambio,  $E_{xc}$  de la ec. 2.8, contiene en el primer paréntesis la energía cinética de la correlación y el segundo paréntesis contiene tanto energía de correlación potencial como de intercambio.

Hasta el momento, la energía de intercambio y correlación presenta una gran variedad de aproximaciones las cuales se pueden encontrar agrupadas en la escalera de Jacob [150], **Fig. 9**. Esta analogía jerárquica fue introducida por Perdew y Schmidt para clasificar las diferentes aproximaciones de la DFT como una metáfora bíblica. La escalera de Jacob se eleva del mundo de Hartree (que no considera la correlación electrónica) hasta el objetivo de la "precisión química", la precisión necesaria para predecir las energías de las reacciones

## ESTRÉS OXIDATIVO Y LA NANOTECNOLOGÍA

químicas (errores de energía del orden de 1 kcal/mol se consideran precisiones termoquímicas). Cada peldaño incorpora los elementos de diseño de acuerdo con la complejidad de los ingredientes fundamentales.



**Figura 9** Ilustración de la escalera de Jacob de la DFT. Imagen tomada de la referencia [151].

- En el primer escalón se tiene a los funcionales con la aproximación de densidad de espín local (LSD *local spin density*) o de la densidad local (LDA *local density approximation*), que únicamente emplean densidades de espín o densidad local.

$$E_{XC}^{LSD}[\rho_{\uparrow}, \rho_{\downarrow}] = \int d^3r n \varepsilon_{xc}^{unif}(\rho_{\uparrow}, \rho_{\downarrow}) \quad (2.9)$$

En donde  $\rho_{\uparrow}, \rho_{\downarrow}$  que corresponde a  $\rho_{\alpha}, \rho_{\beta}$  respectivamente; en donde  $\rho_{\uparrow}, \rho_{\downarrow}$  son la densidad de espín  $\alpha$  y  $\beta$ . Mientras que  $\varepsilon_{xc}^{unif}(\rho_{\uparrow}, \rho_{\downarrow})$  es la energía de correlación e intercambio por partícula con densidad de espín uniforme.

- En el segundo escalón están los de la aproximación de gradiente generalizado (GGA *Generalized Gradient Approximation*). Estos son funcionales que hacen uso del gradiente de la densidad ( $\nabla\rho_{\uparrow}, \nabla\rho_{\downarrow}$ ) como ingrediente adicional, por lo que son funcionales semilocales de la densidad.

$$E_{XC}^{GGA}[\rho_{\uparrow}, \rho_{\downarrow}] = \int d^3r n \varepsilon_{xc}^{GGA}(\rho_{\uparrow}, \rho_{\downarrow}, \nabla\rho_{\uparrow}, \nabla\rho_{\downarrow}) \quad (2.10)$$

- En el tercer escalón están los Meta-GGA. Estos son funcionales que, junto a la densidad y el gradiente de la densidad, utilizan términos relacionados con la energía cinética. Estos también son funcionales semilocales de la densidad.

$$E_{XC}^{MGGA}[\rho_{\uparrow}, \rho_{\downarrow}] = \int d^3r n \varepsilon_{xc}^{MGGA}(\rho_{\uparrow}, \rho_{\downarrow}, \nabla \rho_{\uparrow}, \nabla \rho_{\downarrow}, \nabla^2 \rho_{\uparrow}, \nabla^2 \rho_{\downarrow}, \tau_{\uparrow}, \tau_{\downarrow}) \quad (2.11)$$

En donde  $\tau_{\uparrow}$  es la energía cinética de los orbitales de Kohn-Sham.

- En el cuarto escalón están los hyper-GGA. Estos añaden un ingrediente local, la densidad de energía de intercambio exacta (la energía de intercambio exacta es la calculada en el método de HF). Esto introduce mayores retos computacionales. Aquí se encuentran los semiempíricos hyper-GGA que mezclan una fracción de intercambio exacto con el intercambio GGA e híbridos locales.

$$E_{XC}^{HGGA}[\rho_{\uparrow}, \rho_{\downarrow}] = \int d^3r n \varepsilon_{xc}^{HGGA}(\rho_{\uparrow}, \rho_{\downarrow}, \nabla \rho_{\uparrow}, \nabla \rho_{\downarrow}, \nabla^2 \rho_{\uparrow}, \nabla^2 \rho_{\downarrow}, \tau_{\uparrow}, \tau_{\downarrow}, \varepsilon_{x\uparrow}, \varepsilon_{x\downarrow}) \quad (2.12)$$

- En el quinto escalón están los que utilizan todos los orbitales de Kohn-Sham. Aún no hay un consenso por lo que se pueden etiquetar junto a los de aproximación de fase aleatoria (RPA, *random-phase approximation*) y los de aproximación doblemente híbrida (DHA, *doubly hybrid approximation*). Esos fueron desarrollados principalmente para problemas de ciencias de los materiales y químicos respectivamente.

### II.3.1 Funcionales de Minnesota

Debido a que la función exacta de correlación e intercambio se desconoce, se han realizado distintas aproximaciones para mejorar la precisión de los resultados para diversos problemas químicos a un costo computacional moderado. Desde el 2005, Truhlar y colaboradores han publicado distintos funcionales de la densidad. Dentro de ellos están los locales M06-L, M11-L, MN12-L y MN15-L, los híbridos globales M05, M05-2X, M06, M06-2X, M06-HF, etc. y los híbridos de rango separado M11 y MN12-SX. La selección de cualquiera de ellos depende de la propiedad que se quiera calcular, en la referencia [152] se puede ver el desempeño de estos en distintas situaciones.

Dado que en este trabajo se usaron los funcionales M06-L y M06-2X que se seleccionaron después de una calibración según las propiedades evaluadas en cada caso. A continuación, se describe cada uno de ellos brevemente.

## M06-L

Es un funcional de la densidad local clasificado como meta-GGA. Este está diseñado para obtener la termoquímica de los elementos del grupo principal y de transición, la cinética termoquímica e interacciones no covalentes [153]. M06-L fue diseñado para captar la dependencia principal de la energía de intercambio-correlación en la densidad de espín local, el gradiente de la densidad de espín y la densidad de energía cinética de espín. M06-L ofrece el mejor rendimiento general para una combinación de termoquímica de grupo principal, cinética termoquímica e interacciones organometálicas, biológicas y no covalentes. También predice muy bien geometrías y frecuencias de vibración. Fue desarrollado con la premisa de las ventajas computacionales de las funciones locales, por lo que este debería ser muy útil para muchas aplicaciones en química, especialmente, para simulaciones en sistemas de tamaño moderado, grande y cuando se deban abordar escalas de tiempo largas. El funcional M06-L está dado por su ecuación general,

$$E_X^{M06-L} = \sum_{\sigma} \int dr [F_{X\sigma}^{PBE}(\rho_{\sigma}, \nabla p_{\sigma}) f(w_{\sigma}) + \varepsilon_{X\sigma}^{LSDA} h_X(x_{\sigma}, z_{\sigma})], \sigma = \alpha, \beta \quad (2.13)$$

El funcional depende de las variables:  $\rho_{\alpha}$ , la densidad de espín,  $x_{\sigma}$ , el gradiente de la densidad reducida,

$$x_{\sigma} = \frac{|\nabla \rho_{\sigma}|}{\rho_{\sigma}^{4/3}} \quad (2.14)$$

Incluye términos basados en el funcional VSXC (intercambio-correlación de Voorhis y Scuseria). Que son la variable  $z_{\sigma}$  y las funciones de trabajo  $h$  y  $\gamma$  que definen como,

$$z_{\sigma} = \frac{\tau_{\sigma}}{\rho_{\sigma}^{4/3}} - C_F, \quad C_F = \frac{3}{5} (6\pi^2)^{2/3} \quad (2.15)$$

$$h(x_\sigma, z_\sigma) = \left( \frac{d_0}{\gamma(x_\sigma, z_\sigma)} + \frac{d_1 x_\sigma^2 + d_2 z_\sigma}{\gamma^2(x_\sigma, z_\sigma)} + \frac{d_3 x_\sigma^4 + d_4 x_\sigma^2 z_\sigma + d_5 z_\sigma^2}{\gamma^3(x_\sigma, z_\sigma)} \right) \quad (2.16)$$

$$\gamma(x_\sigma, z_\sigma) = 1 + \alpha(x_\sigma^2 + z_\sigma) \quad (2.17)$$

$F_{X\alpha}^{PBE}(\rho_\sigma, \nabla p_\sigma)$  es la densidad de energía de intercambio de Perdew-Burke-Ernzerhof (PBE), definido como un factor de mejoramiento [154].  $\varepsilon_{X\alpha}^{LSDA}$  es la aproximación de densidad local (LSDA) para el intercambio,

$$\varepsilon_{X\sigma}^{LSDA} = \frac{3}{2} \left( \frac{3}{4\pi} \right)^{1/3} \rho_\sigma^{4/3} \quad (2.18)$$

Y  $f(w_\alpha)$  es otro factor de mejoramiento definido como la densidad de energía de espín cinética,

$$f(w_\sigma) = \sum_{i=0}^m a_i w_\sigma^i \quad (2.19)$$

En donde  $w_\alpha$  es una función de  $t_\alpha$ , y  $t_\alpha$  es una función de  $\tau_\alpha$  y de la densidad de espín  $\rho_\alpha$ .

$$w_\alpha = (t_\sigma - 1)/(t_\sigma + 1) \quad (2.20)$$

$$t_\sigma = \tau_\sigma^{LSDA}/\tau_\sigma \quad (2.21)$$

$$\tau_\sigma^{LSDA} = \frac{3}{10} (6\pi^2) \rho_\sigma^{5/3} \quad (2.22)$$

$$\tau_\sigma = \frac{1}{2} \sum_i^{oc} |\nabla \Psi_{i\sigma}|^2 \quad (2.23)$$

Se debe considerar que la energía de correlación e intercambio para los funcionales híbridos se escribe como,

$$E_{XC}^{hib} = \frac{X}{100} E_X^{HF} + \left(1 - \frac{X}{100}\right) E_X^{DFT} + E_C^{DFT} \quad (2.24)$$

En donde  $E_{XC}^{hib}$  es la energía de intercambio no local de HF,  $X$  es el porcentaje de intercambio HF en el funcional híbrido,  $E_X^{DFT}$  es la energía de intercambio de la DFT local y  $E_C^{DFT}$  es la energía de correlación de la DFT local.

## M06-2X

Es un funcional híbrido meta-GGA, clasificado como de alta no localidad con el doble de intercambio no local (2X). Es decir, es un híbrido con un 54% de intercambio de HF. Calcula barreras de energía de manera más confiable que B3LYP. Este funcional se recomienda para aplicaciones que involucren termoquímica, cinética, interacciones no covalentes, las energías de interacciones no covalentes y las energías de excitación electrónica de los grupos principales, pero no es adecuado para describir la química de los metales de transición.

$$E_X^{M06} = \sum_{\sigma} \int dr [F_{X\sigma}^{PBE}(\rho_{\sigma}, \nabla p_{\sigma}) f(w_{\sigma}) + \varepsilon_{X\sigma}^{LSDA} h_X(x_{\sigma}, z_{\sigma})] \quad (2.25)$$

En dónde  $h_X(x_{\sigma}, z_{\sigma})=0$ .

## II.3.2 DFT Conceptual

R.G. Parr desarrolló la DFT Conceptual donde la densidad electrónica  $\rho(\vec{r})$  es la cantidad fundamental para describir los estados básicos atómicos y moleculares. La DFT Conceptual define descriptores de la reactividad química globales y locales para comprender y predecir el comportamiento químico de un sistema.

Los descriptores globales de la reactividad permiten medir la respuesta global de un sistema a diferentes perturbaciones. El sistema tiene  $N$  electrones [155], por lo tanto, la densidad electrónica está determinada por  $N$  y un potencial externo  $v(\vec{r})$ , teniendo la energía electrónica  $E\{N, v(\vec{r})\}$ . La primera derivada de  $E$  con respecto a  $N$  es:

$$\left(\frac{\partial E}{\partial N}\right)_{v(\vec{r})} = -\mu = \chi = \frac{I + A}{2} \quad (2.26)$$

## ESTRÉS OXIDATIVO Y LA NANOTECNOLOGÍA

Esto da como resultado el potencial químico ( $\mu$ ) y la electronegatividad ( $\chi$ ). El  $\mu$  mide la tendencia de escape de los electrones de un sistema y la  $\chi$  mide la tendencia de atracción de electrones. Estos se pueden calcular por la aproximación de diferencias finitas (FDA, *finite differences approximation*) con el potencial de ionización vertical ( $I$ ) y la afinidad electrónica vertical ( $A$ ).  $I$  mide la energía requerida para remover un electrón del sistema en estado fundamental sin relajación del sistema y  $A$  mide la energía del sistema en estado fundamental que captura un electrón sin relajación del sistema [156, 157]. Estas se calculan como:

$$I = E(N - 1) - E(N) \quad (2.27)$$

$$A = E(N) - E(N + 1) \quad (2.28)$$

Por lo que es necesario realizar cálculos “*single point*” para obtener el catión ( $N - 1$ ) y el anión ( $N + 1$ ) del sistema neutro optimizado. La segunda derivada de la energía da la dureza química global ( $\eta$ ) que mide la resistencia de una molécula a la transferencia de carga intramolecular, por lo que indica que tan estable es un sistema [158]. Este se obtiene de la siguiente manera

$$\eta = I - A \quad (2.29)$$

El recíproco de la  $\eta$ , es la blandura química global ( $S$ ), ec. 2.30, esta mide la susceptibilidad de un sistema a reaccionar.

$$S = \frac{1}{\eta} \quad (2.30)$$

Otro descriptor es el índice de electrofilicidad ( $\omega$ ) [159].  $\omega$  mide el cambio de la energía de un electrófilo cuando se satura con electrones. Para medir la respuesta de un sistema al sustraerle o añadirle carga, se desarrollaron los índices conocidos como poder electrodonador ( $\omega^-$ ) y poder electroaceptor ( $\omega^+$ ) [160]. El  $\omega^-$  es gobernado por el proceso de donación de carga dando más énfasis al  $I$ ; por lo que  $\omega^-$  mide la susceptibilidad de donar carga electrónica. Mientras que  $\omega^+$  está gobernado por el proceso de aceptación de carga haciendo más énfasis sobre la  $A$ ; por lo que mide la

susceptibilidad de aceptar carga electrónica. Se debe mencionar que estos pueden ser cuantificados independientemente de la cantidad fraccional de carga donada o aceptada. Estos se obtienen de las siguientes ecuaciones:

$$\omega \equiv \frac{(I + A)^2}{8(I - A)} \quad (2.31)$$

$$\omega^+ \equiv \frac{(I + 3A)^2}{16(I - A)} \quad (2.32)$$

$$\omega^- \equiv \frac{(3I + A)^2}{16(I - A)} \quad (2.33)$$

Para explicar la selectividad dentro de una molécula, es necesario usar los descriptores de la reactividad química local. Estos pueden ser útiles para probar sitios específicos de interacción entre dos agentes químicos. Por lo que pueden ser utilizados para explicar un amplio rango de problemas químicos como reacciones de adición [161], predicción de afinidades de protón [162], mecanismos de reacción de sustitución nucleofílica [163], entre otras.

Los descriptores locales más ampliamente usados son las funciones de Fukui [159]. La función de Fukui es un índice de reactividad local intramolecular. En las funciones condensadas de Fukui se tiene a la función de Fukui nucleofílica  $f_j^+$  relacionada con el orbital LUMO (Orbital Moléculas más bajo desocupado) y mide la reactividad hacia un agente donante; por su parte la función de Fukui electrofílica  $f_j^-$ , asociada con el orbital HOMO (Orbital molecular más alto ocupado), mide la reactividad de agente aceptor.

$$f_j^+ = q_j(N + 1) - q_j(N) \quad (2.34)$$

$$f_j^- = q_j(N) - q_j(N - 1) \quad (2.35)$$

donde  $q_j(N)$  denota la población electrónica o carga atómica del  $j$ -ésimo átomo del sistema de referencia. En consecuencia, es necesario calcular las cargas de los sistemas neutro, catiónico y aniónico.

Por otro lado, también se ha propuesto la blandura o suavidad local para analizar posibles interacciones con moléculas electrófilas o nucleófilas. La suavidad local es un índice de reactividad intermolecular y es posible compararlo con los valores locales de otros sistemas. Se define como el producto de la blandura o suavidad total ( $S$ ) y la función Fukui condensada [164]. Se puede obtener  $s_j^+$  para estudios de ataques nucleofílicos y  $s_j^-$  para estudios de ataques electrofílicos, calculados de la siguiente manera:

$$s_j^+ = S f_j^+ \quad (2.36)$$

$$s_j^- = S f_j^- \quad (2.37)$$

## II.4 CONJUNTO DE FUNCIONES BASE

Un conjunto de funciones base se utiliza para describir la forma de los orbitales en un átomo. Los orbitales atómicos u orbitales moleculares pueden ser creados por funciones de base localizadas en el átomo. Los orbitales son expandidos como una combinación lineal de funciones con coeficientes específicos. En cálculos de DFT y *ab initio* se debe establecer una función de base de la cual va a depender parcialmente la exactitud de los resultados. Por ello, se debe elegir de manera cuidadosa el conjunto de base apropiado, un conjunto de base pequeño puede representar una aproximación pobre y uno muy grande puede ser muy costoso y lento [139, 144].

Las funciones base son clasificados en dos tipos: los orbitales tipo Slater [165] (STO, *Slater Type Orbitales*) y los orbitales tipo Gaussian (GTO, *Gaussian Type Orbitals*). El tipo de funciones base también puede influenciar la calidad de los resultados.

Los STO tienen la siguiente expresión:

$$\chi_{\zeta,n,l,m}(r, \theta, \varphi) = N Y_{l,m}(\theta, \varphi) r^{n-1} e^{-\zeta r} \quad (2.38)$$

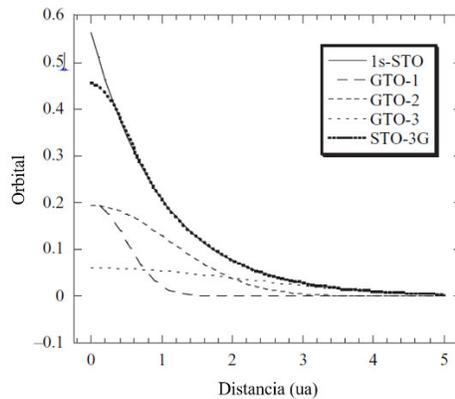
en donde  $N$  es la constante de normalización,  $Y_{l,m}$  es esencialmente la función del armónico esférico que da la forma de los orbitales ( $s, p, d$ ) [166],  $\zeta$  se obtiene de bases de datos que no

cambian durante el cálculo. Los STO se utilizan principalmente para sistemas atómicos y diatómicos donde se requiere una alta precisión, en métodos semiempíricos en donde las integrales de tres y cuatro centros son despreciadas y en métodos puros de la DFT que no incluyen el intercambio exacto de HF.

Los GTO tienen la siguiente expresión general:

$$\chi_{\zeta,n,l,m}(r, \theta, \varphi) = NY_{l,m}(\theta, \varphi)r^{2n-2-l}e^{-\zeta r^2} \quad (2.39)$$

En dónde  $e^{-\zeta r^2}$  es la función primitiva gaussiana. Las GTO requieren más funciones primitivas que las STO para describir la función de onda. Sin embargo, realizar cálculos con GTO resultan converger en menor tiempo que con las STO. La comparación entre las funciones STO y GTO para representar la función de onda se puede ver en la **Fig. 10**.



**Figura 10** Aproximación de un orbital tipo Slater con varios orbitales tipo Gaussiano. Imagen adaptada de la referencia [139].

Una vez que se ha seleccionado el tipo de función, se debe seleccionar el número de funciones a usar. El número de funciones más pequeño posible se llama conjunto de base mínima, solo emplean los orbitales ocupados del átomo neutro. Por ejemplo: para el átomo de hidrógeno solo usa funciones  $s$  ( $1s$ ). De ahí están las Doble Z (DZ), que duplican las funciones base a usar; por ejemplo, para el átomo de hidrógeno usa dos funciones de base  $s$  ( $1s$  y  $1s'$ ). Luego están las funciones de base triple Z (TZ), que tiene tres veces las funciones base.

## ESTRÉS OXIDATIVO Y LA NANOTECNOLOGÍA

Una familia de bases, comúnmente llamadas conjunto de funciones base estilo Pople, tienen la notación  $k-nlmG$ .  $k$  indica el número de funciones primitivas GTO usadas para representar cada orbital del *core*.  $nlm$  indica cuantas funciones de los orbitales de valencia se dividen. Son populares para moléculas orgánicas, pero también son empleadas en moléculas inorgánicas. Estas pueden ser modificadas al añadir algunos términos extra, conocidos como funciones difusas y polarizadas.

La 6-31G es una base de valencia dividida, en donde los orbitales del *core* son una contracción de seis funciones primitivas GTO. Mientras la parte interna de los orbitales de valencia son una contracción de tres funciones primitivas GTO y la parte externa de la valencia está representada por una función primitiva GTO. Por ejemplo: para el átomo de hidrógeno ( $1s$ ) se tendrá  $1s$  y  $1s' = 2$  funciones contraídas (de  $[4s]$  primitivas a  $[2s]$  contraídas) y para el átomo de carbono ( $1s\ 2s\ 2p$ ) se tendrá  $1s, 2s, 2p, 2s'$  y  $2p' = 5$  funciones contraídas (de  $[10s4p]$  primitivas a  $[3s2p]$  contraídas).

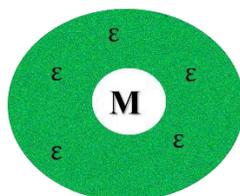
Las funciones difusas son las  $s$  y  $p$ , en este caso, se denotan con el símbolo + o ++ antes de la G: un solo símbolo de + indica que se añade una función  $p$  sobre los átomos pesados y el segundo + es cuando se añade una función  $s$  a los átomos de hidrógeno. Estas son utilizadas para permitir la flexibilidad del tamaño del orbital.

Las funciones de polarización se indican después de la G. Una notación para denotar las funciones de polarización es el uso de \*. Tener un \* equivale a ( $d$ ), que indica que a las funciones  $sp$  de los átomos pesados se les añade una función primitiva  $d$ . Si hay \*\* o ( $d,p$ ), significa que además de las anteriores, un conjunto de primitivas  $p$  se añade a cada uno de los átomos de hidrógeno. Las funciones de polarización proporcionan a la función de onda una mayor flexibilidad para cambiar de forma y para su representación matemática, lo cual facilita como resultado, mayor exactitud en las geometrías y en las frecuencias vibracionales.

## II.5 MODELOS DE SOLVATACIÓN

Un aspecto importante en la QC es evaluar el efecto del ambiente, es decir el solvente. Existen dos tipos de métodos para evaluar el efecto del solvente a) los que describen al solvente como moléculas individuales y b) los que tratan al solvente como un medio continuo, también llamada solvatación implícita [139, 167]. Cada uno se subdivide en métodos que usan

descripción de la CM o QM. Los métodos basados en a) requieren cientos o miles de moléculas para tener un modelo aproximado al real por lo que resulta ser computacionalmente caro. Mientras que los modelos b) [168], consideran al solvente como un medio polarizable uniforme con una constante dieléctrica ( $\epsilon$ ) y el soluto M se coloca en un agujero rodeado del solvente, **Fig. 11** [169].



**Figura 11** Modelo de la solvatación continua, en donde el soluto M es envuelto por una constante dieléctrica  $\epsilon$  que representa el solvente.

La distribución de la carga eléctrica de M polarizará el medio circundante (inducirá momentos de carga), que a su vez actuará de nuevo sobre M, produciendo así una estabilización electrostática. La energía de solvatación va a estar dada por la siguiente ecuación:

$$\Delta G_{solvatación} = \Delta G_{cavidad} + \Delta G_{dispersión} + \Delta G_{electrostático} \quad (2.40)$$

En este trabajo se usaron solventes del tipo b) por el tamaño de los sistemas evaluados y, porque no se está evaluando la interacción de los sistemas con el solvente, solo se requirió conocer el cambio de propiedades electrónicas en distintos solventes para evaluar su comportamiento en medios biológicos.

### II.5.1 Modelo Polarizable Continuo (PCM)

Este modelo fue desarrollado en 1981 [170, 171] y reformulado en 1997 en el llamado IEF-PCM [172–174]. El soluto M tratado por QM se pone en la cavidad, la forma y dimensiones de la cavidad serán determinadas por la estructura molecular de M. La cavidad es la envoltura de esferas (radios de van der Waals) colocadas en los núcleos de la molécula de soluto y dicha cavidad es envuelta por un continuo dieléctrico. M polariza el dieléctrico, esta polarización dieléctrica, a su vez, genera un campo electrostático en M, modificando su densidad electrónica.

### II.5.2 Modelo de Solvatación basado en la Densidad (SMD)

Es un modelo de solvatación universal basado en la QM [175]. La D es por la densidad, para indicar que la densidad total de electrones del soluto se utiliza sin definir cargas atómicas parciales. Es universal por su aplicabilidad a cualquier soluto cargado o no cargado en cualquier solvente o medio líquido. Este ha sido parametrizado cuidadosamente para un gran número de datos. Ha sido desarrollado y parametrizado para trabajar con los funcionales de Minnesota.

Los métodos tienen incertidumbres debido a la definición, tamaño y forma de la cavidad del soluto, la porción de la carga del soluto que puede estar fuera de la cavidad y la forma supuesta en la que la permitividad cambia cerca del soluto. Por lo que SMD incluye correcciones para la cavitación, dispersión y efectos de la estructura del solvente, por lo que da mejores energías de solvatación que PCM.

## II.6 MODELOS DE CARGA ÁTOMICA

La carga atómica es uno de los conceptos más usados en química; sin embargo, no es fácil de cuantificar, por lo que se han desarrollado métodos para calcular la carga atómica. El problema radica en cómo dividir la densidad electrónica molecular, que por definición no pertenece a ningún átomo, entre los diferentes átomos. Existen diferentes formas de dividir la densidad electrónica que conducen a diferentes valores para las cargas atómicas y, por lo tanto, posiblemente a diferentes formas de interpretar la naturaleza del enlace químico.

Uno de los métodos más antiguos y mejor conocidos es el análisis de población de Mulliken [176]. Este método utiliza las funciones base, en términos de las cuales se expresa la función de onda molecular; pero con el aumento del tamaño del conjunto de bases no llega a converger. Por tanto, pueden producirse cargas atómicas poco realistas. Para resolver este problema se crearon métodos basados en poblaciones de funciones base (centradas en el átomo) como el análisis de población natural (NPA)[177].

Posteriormente, se desarrollaron métodos basados directamente en la densidad de electrones en función del espacio como el método de Hirshfeld [178], el de átomos en

moléculas (AIM) de Bader [179] y el de densidad de deformación en Voronoi [180]. Estos últimos no están disponibles en el programa Gaussian09 [181].

### II.6.1 Método de Hirshfeld

Este método hace uso de la densidad electrónica de una molécula y de una promolécula ficticia. La promolécula se define como la suma de las densidades atómicas del estado fundamental:

$$\rho_{promolécula}(\vec{r}) = \sum_B \rho_B(\vec{r}) \quad (2.41)$$

En donde la densidad de la molécula real  $\rho_{molécula}$  en cada punto en el espacio se distribuye sobre los átomos A en la misma proporción en las que las densidades atómicas  $\rho_A$  contribuyen en ese punto a la densidad de la promolécula como  $\rho_{molécula}(\vec{r}) = \left(\frac{\rho_A(\vec{r})}{\rho_{promolécula}(\vec{r})}\right) \rho_{molécula}(\vec{r})$ .

Las cargas atómicas de Hirshfeld se obtienen al restar la integral de la densidad asociada al átomo A de su correspondiente carga nuclear  $Z_A$ ,

$$Q_A^{Hirshfeld} = Z_A - \int \frac{\rho_A(\vec{r})}{\rho_{promolécula}(\vec{r})} \rho_{molécula}(\vec{r}) d\vec{r} \quad (2.42)$$

Las cargas de Hirshfeld son conocidas por ser insensibles al conjunto base empleado y ser consistentes químicamente. Aunque los momentos dipolares son de pequeña magnitud en comparación a los datos experimentales [182, 183].

## II.7 POTENCIAL ELECTROSTÁTICO MOLECULAR

El potencial electrostático molecular (MEP, *molecular electrostatic potential*) es un descriptor muy útil para analizar y predecir la reactividad molecular. Es decir, se puede determinar del MEP los sitios de ataque electrofílico y reacciones nucleofílicas [139, 184]. El MEP es el potencial que experimentaría una unidad de carga positiva en cualquier punto alrededor de la molécula debido a la distribución de la densidad de electrones en la molécula,

evaluado por la ec. 2.43; por lo que MEP permite visualizar la manera en la que se distribuyen los electrones.

$$V_{MEP}(\vec{r}) = \sum_A^{n\acute{u}cleo} \frac{Z_A}{|\vec{r} - \vec{R}_A|} - \int \frac{\rho(\vec{r}')}{|\vec{r} - \vec{r}'|} d\vec{r}' \quad (2.43)$$

Donde  $Z_A$  es la carga nuclear sobre el núcleo A, localizada a  $RA$ ,  $\rho(r)$  es la densidad electrónica de la molécula. El primer término de la ecuación representa la contribución del núcleo (positiva), esto es el cálculo de atracciones por las cargas nucleares y posiciones. El segundo término representa el efecto de la repulsión entre los electrones (negativo). Un electrófilo tiende a ir a aquellas regiones en las que el potencial  $V(r)$  tenga los valores más negativos; las regiones electrofílicas están representadas por rojo, las nucleófilas por azul y verde indican un potencial electrostático neutro.

Durante el mapeo de las moléculas, se toma a la isosuperficie como una de las variables, como las moléculas no tienen una superficie definida, se utiliza su valor radial (densidad electrónica hasta un radio particular). La isosuperficie de la densidad de valores muy pequeños, delimita hasta dónde se mueven los electrones en la molécula con una probabilidad muy cercana al 100%.

## II.8 MÉTODOS HÍBRIDOS QM/MM

Cuando el sistema de interés es muy grande para ser tratado enteramente por cálculos de QM, se han desarrollado los métodos híbridos [139]; estos han sido diseñados para que el sitio activo o de interés sea calculado con métodos QM (semiempíricos o *ab initio* como los métodos DFT), mientras que el resto se calcula con métodos menos costosos. Estos métodos son nombrados QM/MM por *Quantum Mechanics – Molecular Mechanics*. Las técnicas híbridas han tenido un enorme éxito y han ampliado drásticamente el régimen de los sistemas químicos que pueden ser estudiados por las herramientas computacionales de alta precisión.

### II.8.1 ONIOM

ONIOM (por sus siglas en inglés *Our own n-layered Integrated molecular Orbital and Molecular mechanics*) es uno de los métodos QM/MM que se puede utilizar para simular un

sistema molecular con un coste computacional razonable. Fue desarrollado por Morokuma y colaboradores [185] e implementado por primera vez en el programa Gaussian98. Esta técnica modela grandes moléculas en dos o tres capas que pueden ser tratadas por diferentes métodos a diferentes niveles de teoría.

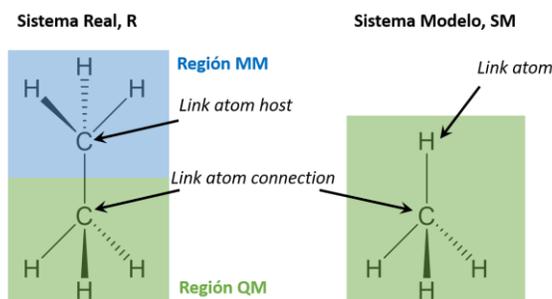
Los cálculos de ONIOM pueden utilizar un método de Mecánica Molecular y uno *ab initio* para el sitio de interés; dichos cálculos se denominan cálculos MO/MM (*Molecular orbitals:Molecular mechanics*, que indican que un método de orbital molecular se combina con mecánica molecular), QM/MM (mecánica cuántica con mecánica molecular) o se pueden combinar dos métodos *ab initio* (MO/MO).

En ONIOM puede haber tres capas, la capa alta (*high*) es la más pequeña (SM) y será tratada con el método más exacto. La capa baja (*low*) generalmente corresponde a los efectos ambientales, por ejemplo, los grupos residuos de aminoácido de una proteína o referente al sistema de mayor tamaño que quiere calcularse con métodos menos costosos. Cuando hay tres capas, se define a la tercera capa (*medium*) de un modelo intermedio (IM) que es tratado con una exactitud intermedia a la de las otras capas. Todo el sistema se denomina sistema real (R).

El método ONIOM aproxima la energía del sistema R por una combinación de energías calculadas por métodos menos costosos computacionalmente, como se ve en la siguiente expresión:

$$E_R^{high} \approx E^{ONIOM} = E_R^{low} + E_{IM}^{medium} + E_{SM}^{high} - E_{IM}^{low} + E_{SM}^{medium} \quad (2.44)$$

Para ONIOM es importante definir correctamente las regiones. Los átomos del límite del sistema (los átomos pesados) en el sistema R enlazados con el sistema SM, se modelan por átomos de enlace (*link atoms*). Este átomo pesado en el sistema SM es remplazado, generalmente, por átomos de hidrógeno como se ve en la **Fig. 12**.



**Figura 12** Representación de las regiones del sistema real al sistema modelo empleado en las capas del modelo ONIOM. Figura adaptada de [https://gaussian.com/oniom\\_technote/](https://gaussian.com/oniom_technote/)

## II.9 QUÍMICA MÉDICA COMPUTACIONAL

Existe un gran interés por predecir la actividad de compuestos en sistemas biológicos, como la actividad de un fármaco, sus propiedades y su toxicidad [140]. La predicción de esto representa grandes retos debido a la complejidad de los sistemas biológicos. Así, el desarrollo de un nuevo fármaco, desde la idea original hasta su lanzamiento al mercado, puede tomar entre 12-15 años con un costo de mil billones de dólares [186]. Actualmente, los métodos computacionales son un complemento útil para las técnicas experimentales para, acelerar el descubrimiento de fármacos. Estos métodos tienen como objetivo el diseño, optimización y selección de compuestos con actividad biológica [187]; sin embargo se debe considerar que [187]:

“A pesar de los avances en el desarrollo de programas computacionales que son de fácil acceso y uso, la aplicación adecuada de las técnicas no es trivial y se debe evitar la idea de «diseñar fármacos apretando botones». La práctica incorrecta de usar métodos de cómputo como cajas negras contribuye a crear falsas expectativas de que los métodos de cómputo pueden diseñar fármacos por sí solos.”

Al final, la selección de métodos, el análisis y la interpretación de los datos obtenidos resulta ser laborioso. Algunos de los métodos que se pueden emplear para el diseño de fármacos se muestran en la **Fig. 13**.



**Figura 13** Métodos para el modelado molecular. Imagen adaptada de la referencia [187]

En este trabajo se ha utilizado el acoplamiento molecular (*docking*) y el estudio cuantitativo de relaciones estructura actividad (QSAR). Aunque no se ha desarrollado un modelo, los programas empleados para evaluar propiedades ADMET (administración, distribución, metabolismo, excreción y toxicidad) usan modelos QSAR, por lo que es necesario entender las bases de los programas empleados.

### II.9.1 Acoplamientos Moleculares (*Docking*)

El acoplamiento molecular es un procedimiento computacional que intenta predecir la unión no covalente de una macromolécula (receptor) y una molécula pequeña (ligando) de manera eficiente, **Fig. 14** [139]. El objetivo es predecir las conformaciones unidas y la afinidad o energía de unión. Hay diferentes formas para realizar el acoplamiento mediante a) dinámicas moleculares con solvente explícito, b) dinámica molecular y MM con solvente implícito; y c) *docking* molecular [188]. En este trabajo se utilizó *docking* molecular.

## ESTRÉS OXIDATIVO Y LA NANOTECNOLOGÍA



**Figura 14** Representación del *docking* entre macromolécula y ligando.

Hay tres tipos de *docking* molecular: el rígido, el semiflexible y el flexible [189]. El rígido implica que las conformaciones de la macromolécula y el ligando no cambian, este es útil para sistemas muy grandes. En el semiflexible la conformación de la macromolécula no cambia, mientras que la del ligando sí cambia; este es útil cuando se tiene un ligando pequeño. En el flexible la conformación tanto del ligando como de la macromolécula (residuos del sitio activo) cambian.

Para la realización del *docking* molecular hay dos partes importantes a considerar i) la búsqueda de los grados de libertad configuracionales y conformacionales y ii) la función de *scoring* o evaluación [188]. La búsqueda conformacional es importante porque no se conoce cuál conformación del ligando va a interactuar más favorablemente con la macromolécula. Un conjunto específico de variables intermoleculares (traslacional y rotacional) es llamado pose; cada conformación del ligando puede tener  $\sim 10^5$  posibles poses. Para reducir el escaneo de poses, se emplean esquemas de optimización que se dividen en tres algoritmos de búsqueda: sistemáticos, estocásticos y deterministas [188]. El principal objetivo de la función *scoring* es probar un alto número de poses rápidamente.

Los métodos estocásticos realizan cambios aleatorios, como ejemplo están los métodos de Monte Carlo y los algoritmos evolutivos. Los algoritmos evolutivos (algoritmos genéticos, AG) exigen que los individuos más aptos pasen a la siguiente generación para realizar mutaciones aleatorias y generar diversidad genética. Para estos, el tamaño de la población, la tasa de mutación, el número de evoluciones son parámetros que pueden influir en los resultados.

## ESTRÉS OXIDATIVO Y LA NANOTECNOLOGÍA

En el programa AutoDock se agregó un AG Lamarckiano (AGL) [190, 191] para mejorar la convergencia de ligandos con una búsqueda local de la energía con MM. Los AG codifican las poses como cadenas “cromosómicas” que se someten a los procesos evolutivos para obtener a los hijos más aptos. Mientras que los AGL permiten que la pose se escriba de nuevo en un cromosoma para una mayor optimización por parte de los AG. Se demostró que AGL es el más eficiente, confiable y exitoso que otros algoritmos de búsqueda [191].

La estabilidad del complejo macromolécula-ligando se evalúa tomando la energía de unión ( $\Delta G_{bind}$ ). Para estimar  $\Delta G_{bind}$  de manera adecuada sin consumir tanto tiempo de cómputo, se han propuesto distintas funciones de *scoring* que se dividen en cuatro clases principales: por métodos de primeros principios, semiempíricos, empíricas y de potenciales basados en el conocimiento. En el caso de AutoDock se usa la función de *scoring* empírica. Estas fueron desarrolladas para reproducir valores experimentales basándose en la idea de que es posible correlacionar la  $\Delta G_{bind}$  con un conjunto de variables no relacionadas. Los coeficientes asociados se obtienen mediante regresiones utilizando datos de  $\Delta G_{bind}$  de estructuras determinadas experimentalmente [192].

La energía en AutoDock se obtiene de las siguientes expresiones.

$$\Delta G = (V_{enzado}^{L-L} - V_{no\ enzado}^{L-L}) + (V_{enzado}^{P-P} - V_{no\ enzado}^{P-P}) + (V_{enzado}^{P-L} - V_{no\ enzado}^{P-L} + \Delta S_{conf}) \quad (2.45)$$

$$V = W_{wdw} \sum_{i,j} \left( \frac{A_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{r_{ij}^6} \right) + W_{hbond} \sum_{i,j} E(t) \left( \frac{C_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{D_{ij}}{r_{ij}^{10}} \right) + W_{elec} \sum_{i,j} \frac{q_i q_j}{e(r_{ij}) r_{ij}} + W_{sol} \sum_{i,j} (S_i V_j + S_j V_i) e^{(r_{ij}^2/1\sigma^2)} \quad (2.46)$$

En donde  $V$  son evaluaciones,  $\Delta S_{conf}$  es la entropía conformacional perdida al unirse.  $L$  se refiere al ligando,  $P$  a la proteína,  $W$  son constantes de peso optimizadas para calibrar la energía, basada en un conjunto de datos experimentales. El primer término en la ec. 2.46 es un potencial de Lennard Jones 6/12 para las interacciones de dispersión/repulsión. Los parámetros están basados en el campo de fuerza AMBER. El segundo término es 10/12

de la interacción por enlaces de hidrógeno. El tercer término es el potencial coulombico y el último término es el potencial de solvatación.

Para validar el protocolo comúnmente se utiliza el valor de la raíz de la desviación cuadrática media (RMSD) para comparar las coordenadas durante el *docking* molecular y las coordenadas de la conformación inicial (el ligando cocrystalizado con la macromolécula cuyas coordenadas se bajan de una base de datos pública). Valores menores de 2.0 Å para RMSD indica que la predicción es bastante buena.

### II.9.2 Relación Cuantitativa Estructura-Actividad (QSAR)

Es un método de modelado matemático o computacional para analizar la relación entre la actividad biológica con algunas de sus propiedades moleculares [193]. El modelado QSAR ayuda a priorizar una gran cantidad de productos químicos en términos de sus actividades biológicas deseadas como resultado, reduce significativamente el número de productos químicos candidatos que se probarán con experimentos *in vivo* [194]. Los modelos QSAR proporcionan predicciones útiles, pero muchas veces fallan, a pesar de las buenas estadísticas generadas. Esta metodología es útil para estimar la dificultad de síntesis de un nuevo compuesto, para evaluar simular ensayos biológicos, para simular las propiedades ADMET de un nuevo fármaco, etc. Todos los casos anteriores son experimentalmente costosos.

Estos se clasifican según su dimensionalidad como [193, 195]:

- 1D-QSAR. Correlacionan la actividad con propiedades globales, cálculo de  $pK_a$ , Log P, etc.
- 2D-QSAR. Correlacionan la actividad con patrones estructurales conocidos como descriptores 2D también llamados topológicos.
- 3D-QSAR. Correlacionan la actividad con interacciones no covalentes con descriptores 3D.

El modelado QSAR puede usar métodos lineales o no lineales [195]. En el caso de los programas usados, como T.E.S.T., generalmente usan métodos lineales, es decir, la regresión lineal. T.E.S.T. es una herramienta utilizada para estimar la toxicidad, es de código abierto y aplica varias metodologías QSAR, lo que permite al usuario tener una mayor confianza en las toxicidades previstas. Además, arroja las herramientas estadísticas para analizar si el

## ESTRÉS OXIDATIVO Y LA NANOTECNOLOGÍA

resultado obtenido es confiable o no. La herramienta se puede descargar gratuitamente del sitio web de la EPA (<http://www.epa.gov/nrmrl/std/cppb/qsar/index.html#TEST>). Los modelos están bien documentados y el conjunto de entrenamiento está disponible como archivos de estructura (archivo SDF).

---

# CAPÍTULO III

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

---

### III.1 JUSTIFICACIÓN

La biomedicina, que trata sobre el desarrollo de nuevos fármacos y nuevas técnicas para ayudar en el tratamiento de enfermedades, brinda nuevas oportunidades para tratar las enfermedades degenerativas que surgen como consecuencia del elevado estrés oxidativo. Dentro de las técnicas que propone la biomedicina, se tiene el uso de materiales nanoestructurados de carbono como es el caso de las hojuelas o *flakes* de grafeno y sus derivados.

En este sentido, con la finalidad de proponer nuevos materiales, así como nuevos fármacos que puedan ayudar en el tratamiento de las enfermedades degenerativas, mediante la reducción del estrés oxidativo; en el trabajo de investigación se presenta un estudio teórico-computacional de nuevos materiales derivados de grafeno que funcionarán como transportadores de fármacos, en donde se emplearan antirradicales libres endógenos y exógenos, como fármacos.

Con ayuda de la Química Teórica y Computacional, se puede realizar un estudio detallado, proponer sistemas y mejoras, y evitar el elevado costo experimental, lo que permite a grupos de investigación dirigir sus esfuerzos a sistemas muy prometedores que ya se estudiaron esta metodología. Por lo tanto, en esta tesis se han estudiado con las herramientas de la Química Teórica y Computacional distintos materiales y antirradicales; así como propuestas para el transporte y la liberación dirigida de los antirradicales libres. Con la finalidad de mejorar la eficiencia de los agentes terapéuticos, el desarrollo de nuevos sistemas acarreadores de fármacos resulta relevante. Esto permitirá reducir el estrés oxidativo y en consecuencia, disminuir la aparición de enfermedades degenerativas.

### III.2 HIPÓTESIS

El grafeno y los derivados de grafeno poseen propiedades fisicoquímicas y electrónicas que les permiten interactuar con compuestos antirradicales libres, lo que permitiría su funcionalización, favoreciendo su transporte y activación para formación de nuevos sistemas antirradicales-grafeno o derivados (nanovectores) y su empleo más eficiente en sistemas biológicos.

### III.3 OBJETIVOS

#### III.3.1 General

Estudiar mediante métodos de la Química Teórica y Computacional las propiedades electrónicas, estructurales y reactividad del grafeno y sus derivados, así como la interacción intra- e intermolecular de los anteriores con moléculas antioxidantes, exógenas y endógenas, para evaluar su capacidad de activación, determinar sus mecanismos de acción y otros efectos que inciden en su transporte y actividad en medios biológicos.

#### III.3.2 Específicos

- I. Optimizar el grafeno y sus derivados empleando DFT. Se trabajará a nivel META-GGA con el funcional del grupo de Minnesota, M06-L, en fase gas y con el conjunto base 6-31G(d).
- II. Optimizar al nivel de teoría M06-2X/6-31+G(d), en fase gas, las moléculas antirradicales endógenas (melatonina y tres de sus principales metabolitos) y exógenas (curcumina diceto, curcumina ceto-enol, ácido chicórico y éster fenetílico del ácido cafeico). Además, se utilizarán algunas moléculas de referencia conocidas para calibrar la metodología.
- III. Reoptimizar las estructuras del grafeno y derivados del grafeno y moléculas antirradicales libres en medio solvente empleando la teoría de medio continuo polarizable (PCM) y modelo de solvatación basado en la densidad (SMD).
- IV. Analizar la reactividad del grafeno, derivados del grafeno y moléculas antirradicales libres, calculando descriptores globales y locales de la DFT Conceptual como:

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

potencial de ionización vertical, afinidad electrónica vertical, electronegatividad, dureza y blandura absolutas, electrofilicidad, *gap* HUMO-LUMO y funciones condensadas de Fukui. Todos en fase gas y fase solvente.

- V. Formar aductos o nanovectores entre el grafeno y sus derivados interactuando con las moléculas antirradicales de manera covalente, empleando el nivel de teoría M06-2X/6-31+G\*. Más adelante en los aductos o sistemas de mayor tamaño se utilizarán métodos QM/MM híbridos.
- VI. Estudiar la estabilidad, reactividad y descriptores químicos de los nanovectores formados, en fase gas y fase solvente.
- VII. Determinar sus mecanismos de acción y otros efectos para el transporte en medios biológicos.

# CAPÍTULO IV

## METODOLOGÍA EMPLEADA

El trabajo de investigación está dividido en cuatro capítulos, correspondientes a los cuatro proyectos realizados; cada uno corresponde a todo el análisis detallado del sistema para comprobar la hipótesis planteada. Para este fin, se utilizaron herramientas de la Química Teórica y Computacional, en específico se empleó DFT.

En el capítulo V, se muestra el análisis del grafeno y derivados del grafeno, analizando la reactividad química con los descriptores químicos de la reactividad de la DFT Conceptual. En los capítulos VI y VII, se presenta la evaluación de distintos antioxidantes estudiados para proponer nuevos antioxidantes contra el estrés oxidativo. Finalmente, en el capítulo VIII, se armaron los nanovectores con los derivados de grafeno con mejores propiedades para ser transportadores de fármacos con algunos antioxidantes. En cada uno de los capítulos se detalla la metodología empleada para estudiar cada uno de los sistemas. En el siguiente diagrama se muestra el esquema general de trabajo.

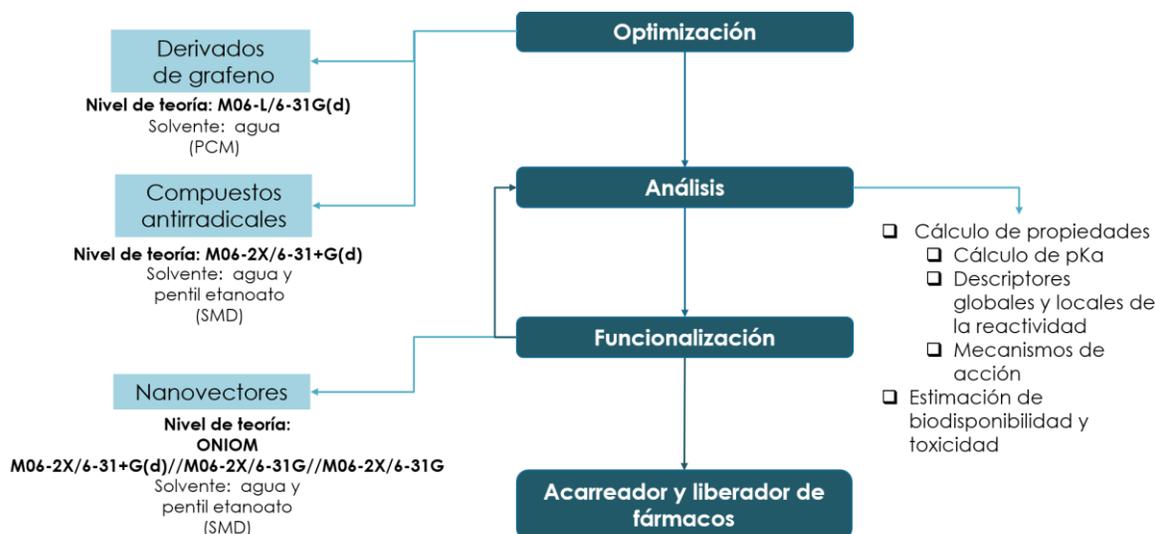


Figura 15 Diagrama del proceso de investigación realizado.

---

# CAPÍTULO V

## GRAFENO Y DERIVADOS DE GRAFENO

---

### V.1 INTRODUCCIÓN

Los alótropos de carbono son materiales que han sido usados por sus interesantes propiedades y su habilidad para formar diversos tipos de enlaces  $sp$ ,  $sp^2$  y  $sp^3$  [97]. De estos, como se ha mencionado antes, los materiales 2D grafeno y los *graph-n-yne* han sido muy estudiados por sus diversas aplicaciones [196–199]. Estos materiales pueden sufrir modificaciones como dopado y funcionalización que modifican su solubilidad y propiedades electrónicas. El dopado se refiere al **reemplazo** de un átomo de carbono por un heteroátomo como N, B o P [200–203]. La funcionalización se refiere a **añadir** un átomo o un grupo funcional a un átomo de carbono del grafeno. Algunos ejemplos de estos sistemas son el grafano, el fluorografeno y el óxido de grafeno [112, 113, 204]. En el grafano todos los átomos de carbono están unidos a átomos de hidrógeno; en el fluorografeno, todos los átomos de carbono están unidos a átomos de flúor; y en el óxido de grafeno hay una mezcla de varios grupos funcionales como alcoholes (-OH), éteres (-O-), epoxi (>O), cetonas (=O), lactonas (-O=O)) y ácidos carboxílicos (-COOH) [128]. Así, grafano y fluorografeno son láminas 2D con hibridación  $sp^3$ ; de manera similar, en el óxido de grafeno hay hibridación  $sp^3$  cerca de cada zona funcionalizada.

Se han realizado trabajos computacionales para entender y predecir el comportamiento químico de este tipo de materiales; en donde se ha empleado DFT para entender la reactividad y la estructura electrónica de algunos materiales 2D. De igual manera, la DFT Conceptual ha permitido la cuantificación de la reactividad de un sistema tanto de manera global como local mediante los descriptores de la reactividad global y local. Como estos, se tienen los trabajos de Cortés-Arriagada y colaboradores [205], en donde usaron los índices de reactividad global como dureza química y electrofilicidad y las funciones de Fukui de los descriptores locales de la reactividad para entender la química del óxido de grafeno y

## GRAFENO Y DERIVADOS DE GRAFENO

del grafeno dopado. Ellos encontraron que el carácter electrofílico y nucleofílico de estos sistemas incrementa al dopar con N o B al grafeno y al funcionalizar con grupos -OH al grafeno [205]. En otro trabajo similar se investigó la selectividad de B y/o N para dopar grafeno y al óxido de grafeno mediante los descriptores globales y locales de la reactividad encontrando resultados semejantes a los de Cortés-Arriagada y colaboradores [206].

Por otro lado, para grafano, fluorografeno, grafino y grafidiino no existen investigaciones de este tipo, por lo que en este trabajo se elaboró un estudio con los descriptores de la reactividad globales y locales de la DFT del grafeno, grafeno dopado, grafano, fluorografeno, grafino, grafidiino y óxido de grafeno (con distintos grupos funcionales) para entender sus distintas propiedades químicas y cómo cambian con respecto al grafeno. Por último, como el objetivo es que estos sean usados como transportadores de fármacos, se evaluó la posible toxicidad de estos sistemas mediante el cálculo del *gap* HOMO-LUMO y del momento dipolar.

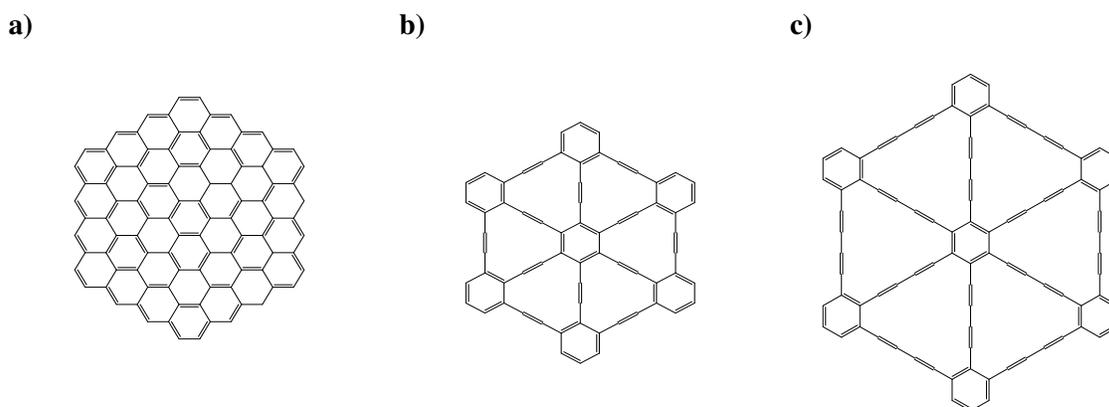
### V.2 METODOLOGÍA

En este apartado se describe la metodología empleada para realizar el estudio de propiedades y características del grafeno y sus derivados. Como derivados, se utilizaron al óxido de grafeno, grafano, fluorografeno, grafino, grafidiino y grafeno dopado con B, N o P. Primeramente, se realizó una calibración para determinar modelos y el nivel de teoría más apropiados. Consecuentemente, se estimaron propiedades electrónicas mediante cálculo de los descriptores globales y locales de la DFT Conceptual.

Todos los cálculos realizados en este capítulo fueron hechos en el programa Gaussian09 Revisión D.01[1] con el nivel de teoría M06-L/6-31G(d) [153, 207], seleccionado después de la calibración que se detalla en los resultados. Todas las geometrías son mínimos en la superficie de energía potencial confirmado por la ausencia de frecuencias imaginarias en la matriz hessiana. Para evaluar los modelos en condiciones fisiológicas y considerando que el agua es el mayor componente, se empleó agua para simular dichas condiciones del ambiente. Para evaluar el efecto del solvente (agua,  $\epsilon=78.36$ ) se empleó el modelo PCM [170].

### V.2.1 Estado del Arte

Para seleccionar el modelo adecuado y el nivel de teoría, se realizó un estudio previo, para ello se emplearon modelos finitos del grafeno y sus derivados. Lo anterior consiste en realizar un recorte de la lámina de grafeno y funcionalizar los bordes de manera adecuada para evitar la reactividad ficticia, y así, se unieron átomos de hidrógeno a los carbonos del borde. La razón de utilizar hidrógenos es porque permite cerrar las valencias insatisfechas de los carbonos y otros átomos pesados en los bordes (*dangling bonds*). Esta técnica no incorpora ambientes químicos diferentes, no añaden mayor tiempo computacional y mantiene al sistema plano; recordando que si se observa una pequeña región de grafeno esta es plana. El modelo finito empleado es en donde los átomos de carbono están arreglados de forma hexagonal con bordes en zigzag; el cual fue preferido por estudios teóricos previos que mencionan a los *flakes* simétricos como los más estables [208–211]. Si se desea obtener una mejor descripción de fenómenos tales como la funcionalización, lo cual compete a este trabajo, se sabe que es necesario emplear un mínimo de 74 átomos de carbono [208]. Por otro lado, el grafino (*graphyne*, Gi) y grafidiino (*graphdiyne*, Gii) fueron modelados como sistemas finitos  $\gamma$  de forma circular  $C_{66}H_{18}$  y  $C_{90}H_{18}$ , respectivamente, ver **Fig. 16**. El motivo por el que decidimos estudiar el modelo  $\gamma$  fue la similitud electrónica con el grafeno.



**Figura 16** Modelos finitos de a) grafeno,  $C_{96}H_{24}$ ; b) grafino,  $C_{66}H_{18}$  y c) grafidiino,  $C_{90}H_{18}$ .

En la calibración se compararon los modelos  $C_{54}H_{18}$  y  $C_{96}H_{24}$  contra datos cristalográficos del grafito [102], con la finalidad de ver qué modelo es más cercano a datos experimentales. Dichos modelos fueron calibrados con distintos funcionales y conjunto base

que se describen en la sección de resultados, y se midió el error entre los datos calculados y los experimentales.

### V.2.2 Búsqueda Conformacional

Para aproximarnos al conformero de mínima energía, se realizó una búsqueda conformacional. Para esto se utilizó la siguiente secuencia: primeras optimizaciones con el método semiempírico PM3 [114], los mejores conformeros fueron reoptimizados con el nivel de teoría BPV86/6-31G [212, 213]. Por último, el mejor conformero fue reoptimizado con el nivel de teoría M06-L/6-31G(d).

### V.2.3 Cálculo de los Descriptores Globales y Locales de la Reactividad

Las propiedades electrónicas fueron obtenidas por los descriptores globales y locales de la reactividad de la DFT Conceptual, mencionados en el capítulo II: potencial de ionización vertical ( $I$ ), afinidad electrónica vertical ( $A$ ), electronegatividad ( $\chi$ ), dureza química ( $\eta$ ), blandura absoluta ( $S$ ), electrofilicidad ( $\omega$ ), potencia electrodonadora ( $\omega^-$ ), potencia electroaceptora ( $\omega^+$ ), *gap* HOMO-LUMO y funciones condensadas de Fukui ( $f_j^+$  y  $f_j^-$ ) y blandura local ( $s_j^+$  y  $s_j^-$ ). Estos se consiguieron mediante cálculos simples sin relajación de la geometría de los conformeros de menor energía con el nivel de teoría M06-L/6-31G(d). Las funciones condensadas de Fukui fueron calculadas mediante el modelo de cargas de Hirschfeld [178].

### V.2.4 Estudio del Potencial Electroestático Molecular

La superficie de potencial electrostático se obtuvo mediante la densidad generada a partir de un cálculo simple a partir de NBO (Orden de enlace natural) con el nivel de teoría M06-L/6-31G(d), en donde se empleó un valor de isosuperficie de 0.0004 u.a.

## V.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### V.3.1 Calibración de la Metodología

Los modelos finitos  $C_{54}H_{18}$  y  $C_{96}H_{24}$  fueron estudiados con distintos funcionales: M06-2X, PBE0, PBE y M06-L, lo que corresponde a incluir 54% de intercambio de HF, 25%, 0% y el local, también 0%, respectivamente. Los anteriores fueron combinados con diversos conjuntos base del tipo Pople o gaussianas, que se muestran en la **Tabla 2**.

Para nuestro análisis estadístico se calcularon parámetros pertinentes como la RMSD, ec. 5.1, error absoluto medio (MUE, ec. 5.2) y error cuadrático medio (MSE, ec. 5.3) que fueron empleados para comparar las distancias y ángulos carbono-carbono en  $C_{54}H_{18}$  y  $C_{96}H_{24}$  contra los datos cristalográficos.

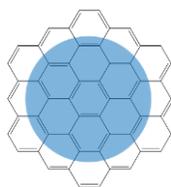
$$RMSD = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (x_i^{ref} - x_i)^2} \quad (5.1)$$

$$MUE = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N |x_i^{ref} - x_i| \quad (5.2)$$

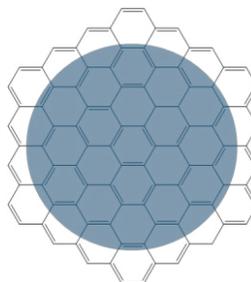
$$MSE = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N x_i^{ref} - x_i \quad (5.3)$$

Donde  $x_i$  es el valor actual observado  $x_i^{ref}$  es el valor estimado y  $N$  es el número de datos. No se consideraron las distancias carbono-hidrógeno presentes en los bordes; las únicas distancias consideradas son las que se encuentran dentro del círculo azul, ver **Fig. 17**.

a)



b)



**Figura 17** a) Modelo de grafeno  $C_{54}H_{18}$  y b) modelo de grafeno  $C_{96}H_{24}$ . Encerrados en un círculo azul se señalan los enlaces y ángulos carbono-carbono que se compararon contra los datos cristalográficos del grafito.

## GRAFENO Y DERIVADOS DE GRAFENO

Hemos encontrado que en el modelo  $C_{54}H_{18}$  se presentaron resultados con mayor error al emplear el funcional PBE, en comparación con todos los demás funcionales, en donde las distancias están en promedio por 0.01 Å arriba de los datos experimentales. Si bien, dicho error en distancia es pequeño, no es por tanto despreciable. Así mismo, este comportamiento lo presentan los resultados con el funcional PBE en el modelo  $C_{96}H_{24}$ . Los niveles de teoría que presentaron valores de error considerables con el modelo  $C_{54}H_{18}$  fueron despreciados en el estudio del modelo  $C_{96}H_{24}$ ; cómo se puede apreciar en la **Tabla 2**, para el modelo  $C_{96}H_{24}$  se añadió el funcional M06-L.

**Tabla 2** Análisis de errores (RMSD) de las distancias carbono-carbono y ángulos de los modelos  $C_{54}H_{18}$  y  $C_{96}H_{24}$  contra los datos cristalográficos del grafito.

Modelo	Nivel de teoría		Grafito		$\bar{X}$		RMSD		MUE		MSE		Tiempo CPU <sup>a</sup>
			(Å)	rad	(Å)	rad	(Å)	rad	(Å)	rad	(Å)	rad	
$C_{54}H_{18}$	M06-2x	6-31G	1.42	2.09	1.42	2.09	0.01	0	0.01	0	0	0	10h 09min 29s
		6-31G**	1.42	2.09	1.42	2.09	0.01	0	0.01	0	0	0	29h 55min 38s
		6-311G	1.42	2.09	1.42	2.09	0.01	0	0.01	0	0	0	1d 17h 36 min 1s
		6-311G**	1.42	2.09	1.42	2.09	0.01	0	0.01	0	0	0	3d 2h45min21s
		6-311+G**	1.42	2.09	1.42	2.09	0.01	0	0.01	0	0	0	6d23h 1m 4s <sup>a</sup>
		6-31G*	1.42	2.09	1.42	2.09	0.01	0	0.01	0	0	0	27h 41min 49s
	PBE0	6-31+G*	1.42	2.09	1.42	2.09	0.01	0	0.01	0	0	0	2d 8h 2min 27s
		6-31G	1.42	2.09	1.42	2.09	0.00	0	0.01	0	0	0	18h 10min 53s
	PBE	6-31G*	1.42	2.09	1.42	2.09	0.01	0	0.01	0	0	0	2d 20h29min28s
		6-31G	1.42	2.09	1.43	2.09	0.01	0	0.00	0	0	0	8h29min39s
$C_{96}H_{24}$	M06-2x	6-31G*	1.42	2.09	1.43	2.09	0.01	0	0.00	0	0	0	2d 08 min 23.8s
		6-31G	1.42	2.09	1.42	2.09	0.01	0	0.00	0	0	0	7h 17min 13s
		6-31G**	1.42	2.09	1.42	2.09	0.01	0	0.00	0	0	0	1h 33min 54s <sup>a</sup>
		6-31G*	1.42	2.09	1.42	2.09	0.01	0	0.00	0	0	0	1d 7h 08min39s
	PBE0	6-311G*	1.42	2.09	1.42	2.09	0.01	0	0.00	0	0	0	18h 32min 51s <sup>a</sup>
		6-31G	1.42	2.09	1.42	2.09	0.00	0	0.00	0	0	0	7h 44min 40s
	PBE	6-31G*	1.42	2.09	1.42	2.09	0.00	0	0.00	0	0	0	21h 07min 30s
		6-31G	1.42	2.09	1.43	2.09	0.01	0	0.00	0	0	0	2h 44min 24.3s
	M06-L	6-31G*	1.42	2.09	1.43	2.09	0.01	0	0.00	0	0	0	8h 53min 17.7s
		6-31G	1.42	2.09	1.42	2.09	0.00	0	0.00	0	0	0	7h 44min 40s
		6-31G*	1.42	2.09	1.42	2.09	0.00	0	0.00	0	0	0	21h 07min 30s

<sup>a</sup> Tiempo de optimización.

Consecutivamente, el análisis de población utilizando NBO permitió ver que en  $C_{54}H_{18}$  hay un efecto importante sobre los carbonos debido a los bordes, lo que seguramente no podría representar una hojuela de grafeno en donde ese efecto sería menor. Esto se presentó en cada uno de los niveles de teoría estudiados. En cambio, para  $C_{96}H_{24}$  este efecto es menor, por lo que este parece ser una mejor representación de una hojuela de grafeno. Analizando

los valores de tiempo computacional es notable ver que para  $C_{54}H_{18}$ , el tiempo de cómputo es menor, en especial con PBE. Mientras que con el funcional M06-2X y conjunto base triple Z, así como con funciones difusas, el tiempo se incrementa considerablemente, esto podría ser un problema al realizar la funcionalización o dopaje del  $C_{96}H_{24}$ .

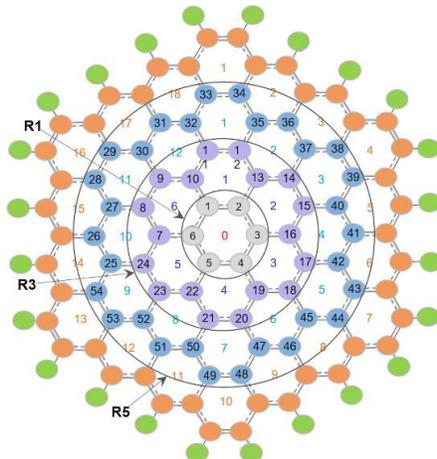
Finalmente, tomando en cuenta todo el análisis anterior, resulta apropiada la utilización del funcional M06-L con el conjunto base 6-31G(d) que presenta menor tiempo de cómputo y menor error en comparación con los datos cristalográficos. El funcional M06-L no posee intercambio de HF, lo que favorece el tiempo de cómputo, por tanto, al ser empleado un funcional un tanto más exacto, fue necesario recurrir a un conjunto base no tan grande que permitiese conseguir resultados de buena calidad a un bajo costo computacional. El modelo finito de grafeno seleccionado es  $C_{96}H_{24}$  que será etiquetado como G.

### V.3.2 Modelos Finitos para los Derivados de Grafeno

Los derivados de grafeno a estudiar son el óxido de grafeno, fluorografeno y grafano como sistemas en donde el grafeno ha sido funcionalizado; también se analizó el grafeno dopado con B, N o P. Finalmente, están el grafino y grafidiino en donde hay cadenas acetilénicas unidas de forma hexagonal. Algunos ejemplos de sistemas dopados y de óxido de grafeno se tomaron del trabajo de Saha y colaboradores en el 2016 [206] y Arriagada en el 2013 [205]. En estos trabajos, como una primera aproximación al óxido de grafeno se consideraron los modelos más simples, en donde se funcionalizó al grafeno con un grupo hidroxilo (-OH), un grupo carboxilo (-COOH) o un grupo epoxi (>O), todos reportados como constituyentes del óxido de grafeno. En cuanto a los dopados de grafeno, igualmente se tomaron modelos sencillos. Como datos importantes hay que destacar la diferencia de los prototipos de grafeno que cada grupo reporta, así como los niveles de teoría que emplearon. Arriagada estudió el modelo  $C_{38}H_{16}$  con lados *zigzag* con el nivel de teoría PBE/DZP; mientras que Saha y colaboradores, utilizaron  $C_{76}H_{22}$  con lados *zigzag* y *armchair* con el nivel de teoría B3LYP/6-31G(d). Como se puede notar, el modelo propuesto en este trabajo difiere de los anteriores en composición, estructura y nivel de teoría, por lo que se espera tener una mejor representación de una hojuela de grafeno y de sus derivados.

## GRAFENO Y DERIVADOS DE GRAFENO

Primeramente, G se dopó con un átomo de B, N o P (etiquetados como GB, BN y GP, respectivamente) en el carbono con la etiqueta 3 (C3) en el anillo 0 (A0) ver la **Fig. 18**. Posteriormente, G se dopó con 2 átomos de B, N o P (G2B, G2N y G2P, respectivamente); para esto se probaron distintas posiciones hasta obtener la de menor energía, ver **Fig. 19**. Estas distintas posiciones fueron seleccionadas con la ayuda del análisis de los orbitales frontera HOMO y LUMO, para evitar probar distintas posiciones y así solo dirigir las modificaciones químicas hacia los sitios con mayor facilidad para aceptar un átomo.



**Figura 18** Esquema de explicación de las etiquetas usadas para cada átomo del modelo finito seleccionado de G,  $C_{96}H_{24}$ .

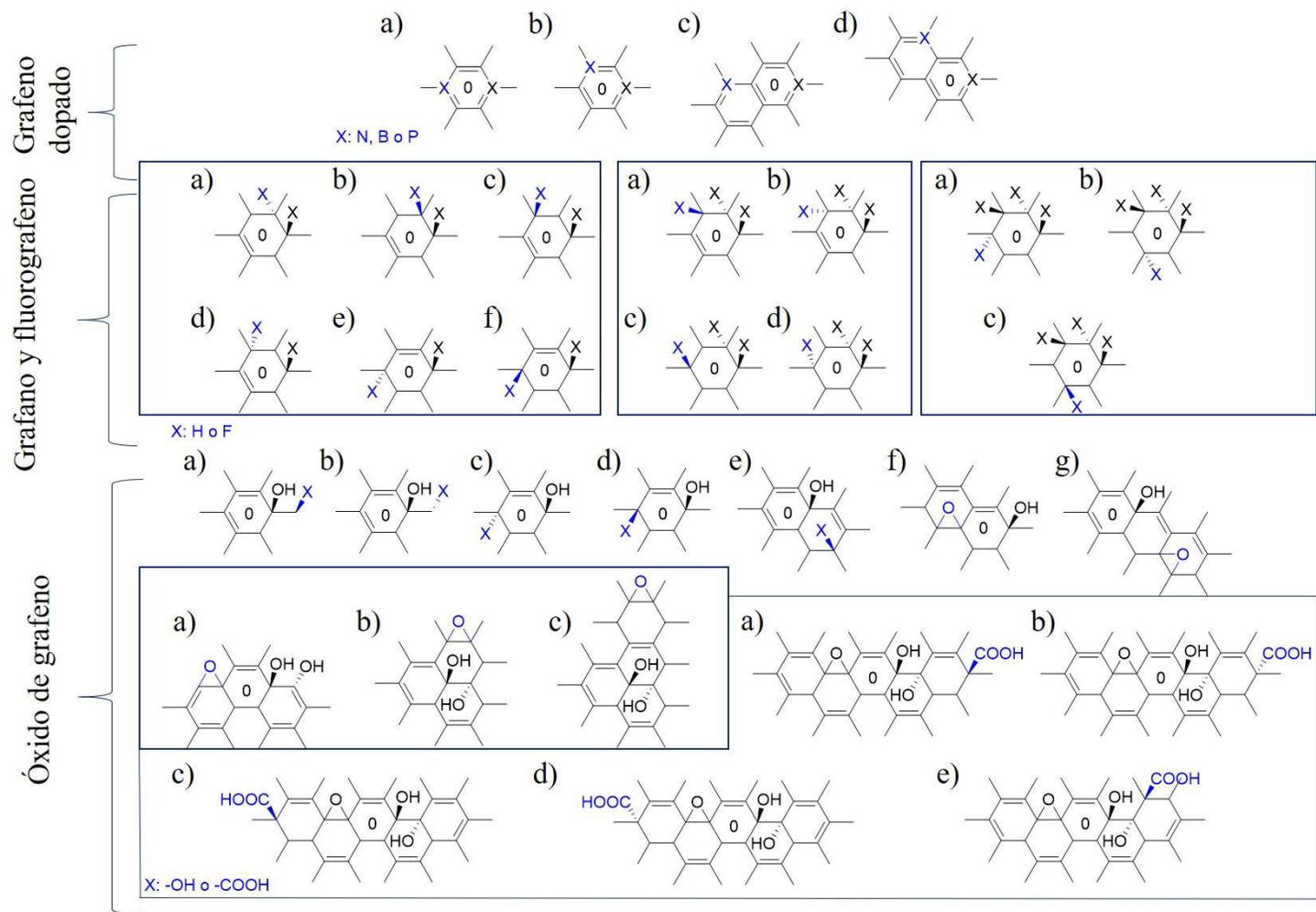
Para grafano y fluorografano, G se funcionalizó paso a paso, *i. e.*, añadimos 1, 2, 4, 6, 24 y 54 átomos de H o F. Estos se etiquetaron como G-1(H o F) cuando hay un átomo añadido (en C3); G-2(H o F) cuando se tienen dos átomos añadidos; G-4(H o F) para cuatro átomos añadidos. Las posiciones de cada átomo que se añadieron se muestran en la **Fig. 19**, en donde al igual que con G dopado se tomaron en cuenta los orbitales frontera HOMO y LUMO. Para 6, 24 y 56 átomos añadidos, estos se añadieron en los anillos etiquetados como R1, R3 y R5, de tal manera que se presenta G-(H o F)R1 para seis átomos añadidos, G-(H o F)R3 para 24 átomos añadidos y, por último, G-(H o F)R5 para 54 átomos añadidos. En estos casos, basados en los resultados de la funcionalización de uno por uno, la configuración alternada es la más estable por lo que para estos modelos se empleó la configuración alternada.

En el caso del óxido de grafano (OG), se incluyeron los grupos funcionales alcohol (-OH), ácido carboxílico (-COOH) y epoxi (>O) en el plano porque, de acuerdo con lo que

## GRAFENO Y DERIVADOS DE GRAFENO

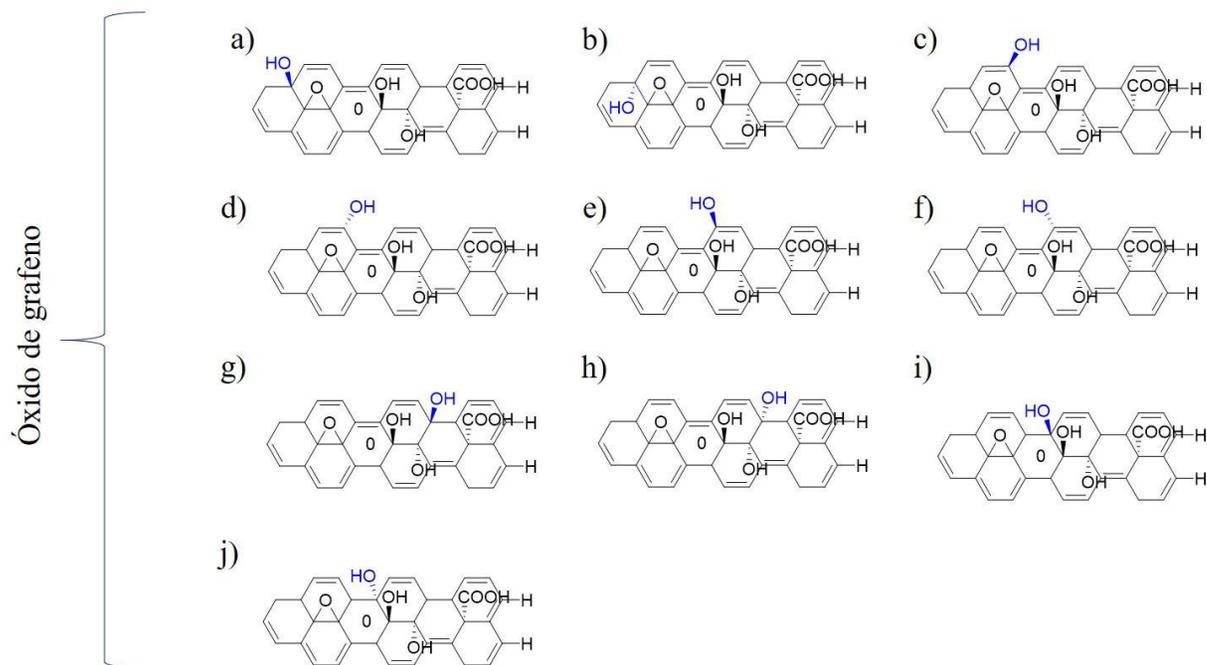
se reporta en la literatura, OG puede contener ciertos grupos como resultado de su oxidación que incluyen alcoholes (-OH), éteres (-O-), epoxi (>O), cetonas (=O), lactonas (-O=O) y ácidos carboxílicos (-COOH), tanto en el plano como en los bordes, y estos suelen estar en una proporción C/O de 2(~1.3)/1 [128, 214, 215]. Para la funcionalización, tal y como se puede ver en la **Fig. 19**, en primer lugar, se añadió un único grupo analizando su reactividad con los descriptores globales de la reactividad de la DFT Conceptual. Posteriormente, se realizó una combinación de estos, en donde se considera al grupo -OH como el de mayor proporción y que confiere mayor reactividad a OG. Como resultado se obtuvieron los siguientes modelos: G con un grupo -OH (G-OH); G con un grupo -COOH (G-COOH); G con un grupo >O (G-O); G con dos grupos -OH (G-A); G con un grupo -OH y un grupo -COOH (G-B); G con un grupo -OH y un grupo >O (G-C); G con dos grupos -OH, es decir, G-A, con un grupo >O añadido (G-D); G-D con un grupo -COOH (G-E); y, por último, G-E con otro grupo -OH (G-F).

## GRAFENO Y DERIVADOS DE GRAFENO



**Figura 19** Posiciones probadas como geometrías iniciales para obtener todos los sistemas estudiados en este trabajo. En azul se indican las posiciones a probar de los átomos o grupos.

## GRAFENO Y DERIVADOS DE GRAFENO

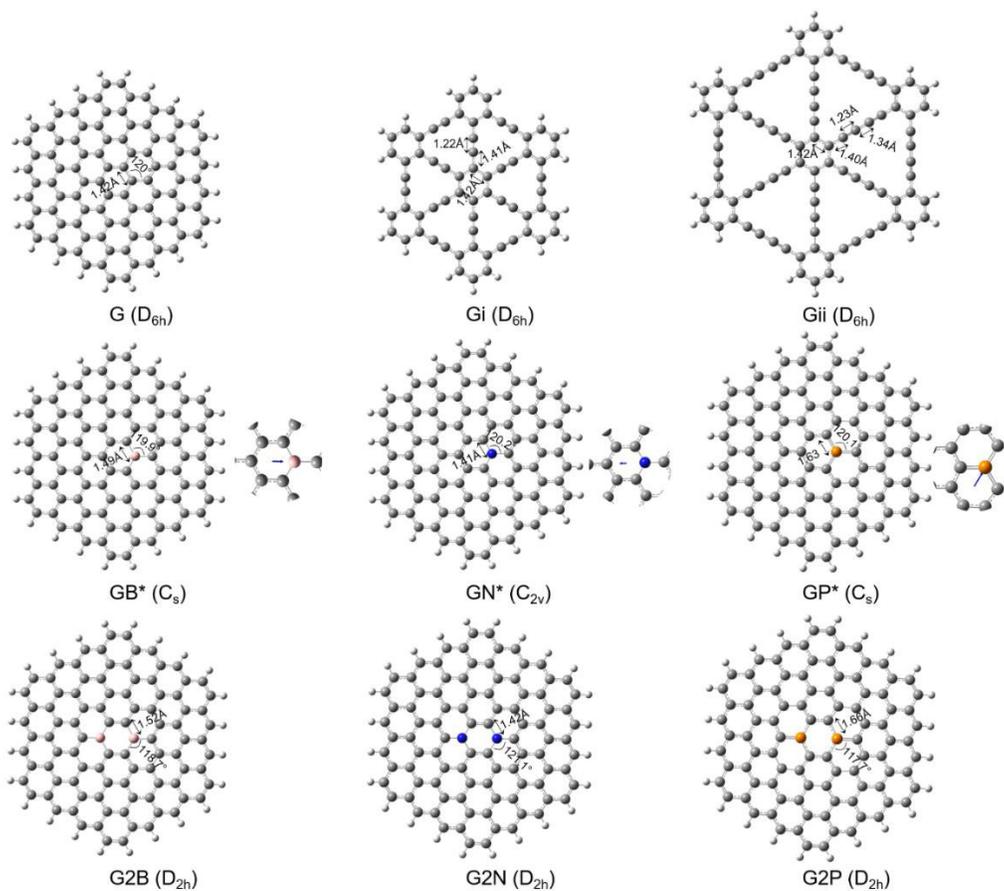


**Figura 19 (continuación).** Posiciones probadas como geometrías iniciales para obtener todos los sistemas estudiados en este trabajo. En azul se indican las posiciones a probar de los átomos o grupos.

### V.3.3 Análisis Estructural

Para entender los cambios producidos por las modificaciones químicas en G, se analizó la variación de propiedades estructurales como la variación de parámetros geométricos como las distancias C-C, los ángulos C-C-C y la hibridación. Para los modelos de grafeno dopados solo con un átomo, el cambio en las distancias C-N, C-B y C-P, es decir, las distancias entre los átomos con las etiquetas C2-C16, C3-C2 y C3-C4 (ver **Fig. 18** para las etiquetas de los átomos); incrementaron por 0.21 Å en comparación a las distancias en G (1.42 Å). Analizando los ángulos C2-C3-C16, C4-C3-C16, estos incrementaron por 57.3° en comparación al que presentan en G (120°). Con esto, en esta zona se presenta una hibridación intermedia entre  $sp^2$  y  $sp^3$ . Por otro lado, G dopado con dos átomos muestra un comportamiento similar a cuando solo se dopa con un átomo.

## GRAFENO Y DERIVADOS DE GRAFENO

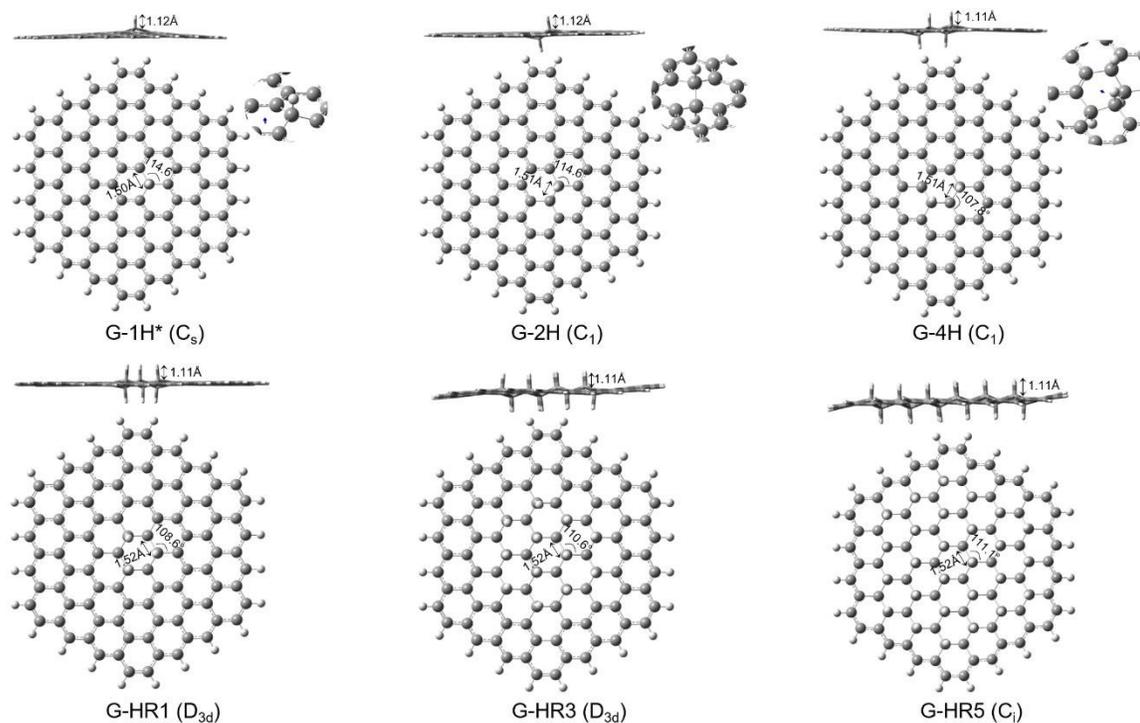


**Figura 20** Estructuras optimizadas con el nivel de teoría M06-2X/6-31G(d) de grafeno (G), grafino (Gi), grafidiino (Gii) y grafeno dopado mostrando valores de distancias, ángulos y grupos puntuales. En gris se muestran los átomos de C, en blanco átomos de H, en rosa átomos de B, en naranja átomos de P y en azul átomos de N. Para una ampliación de la figura, escanear el código QR.



Cuando G es funcionalizado con átomos de hidrógeno o flúor, las distancias C-C incrementan por 0.10 Å mostrando una hibridación entre  $sp^2$  y  $sp^3$ , como se puede ver en las **Figs 20** y **21**. Cuando G tiene 54 átomos de H o F unidos, la estructura plana se pierde totalmente. Como consecuencia, los sistemas pierden la hibridación  $sp^2$  y adoptan una  $sp^3$ ; estos muestran una conformación antiperiplanar (anti o trans), que es la de menor energía.

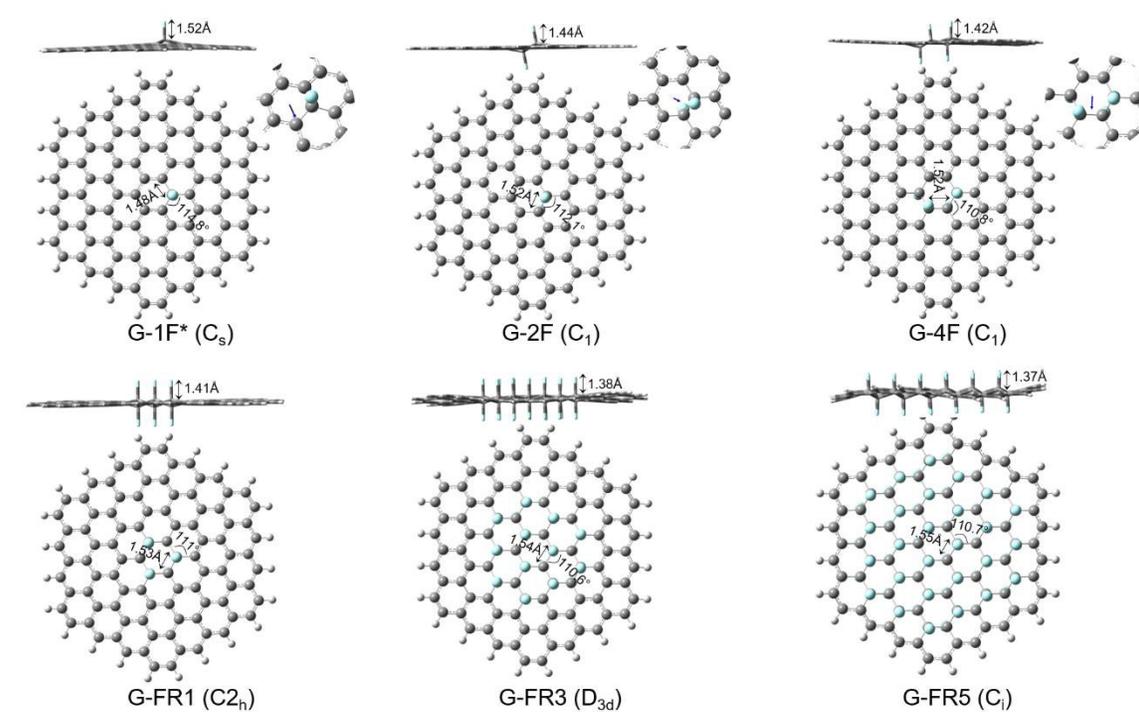
## GRAFENO Y DERIVADOS DE GRAFENO



**Figura 21** Estructuras optimizadas con el nivel de teoría M06-2X/6-31G(d) de los modelos de grafeno mostrando valores de distancias, ángulos, grupos puntuales y el vector de momento dipolar. En gris se muestran los átomos de C y en blanco átomos de H. Para una ampliación de la figura, escanear el código QR.



## GRAFENO Y DERIVADOS DE GRAFENO



**Figura 22** Estructuras optimizadas con el nivel de teoría M06-2X/6-31G(d) de los modelos de fluorografeno mostrando valores de distancias, ángulos, grupos puntuales y el vector de momento dipolar. En gris se muestran los átomos de C, en blanco átomos de H y en cian, átomos de F. Para una ampliación de la figura, escanear el código QR.

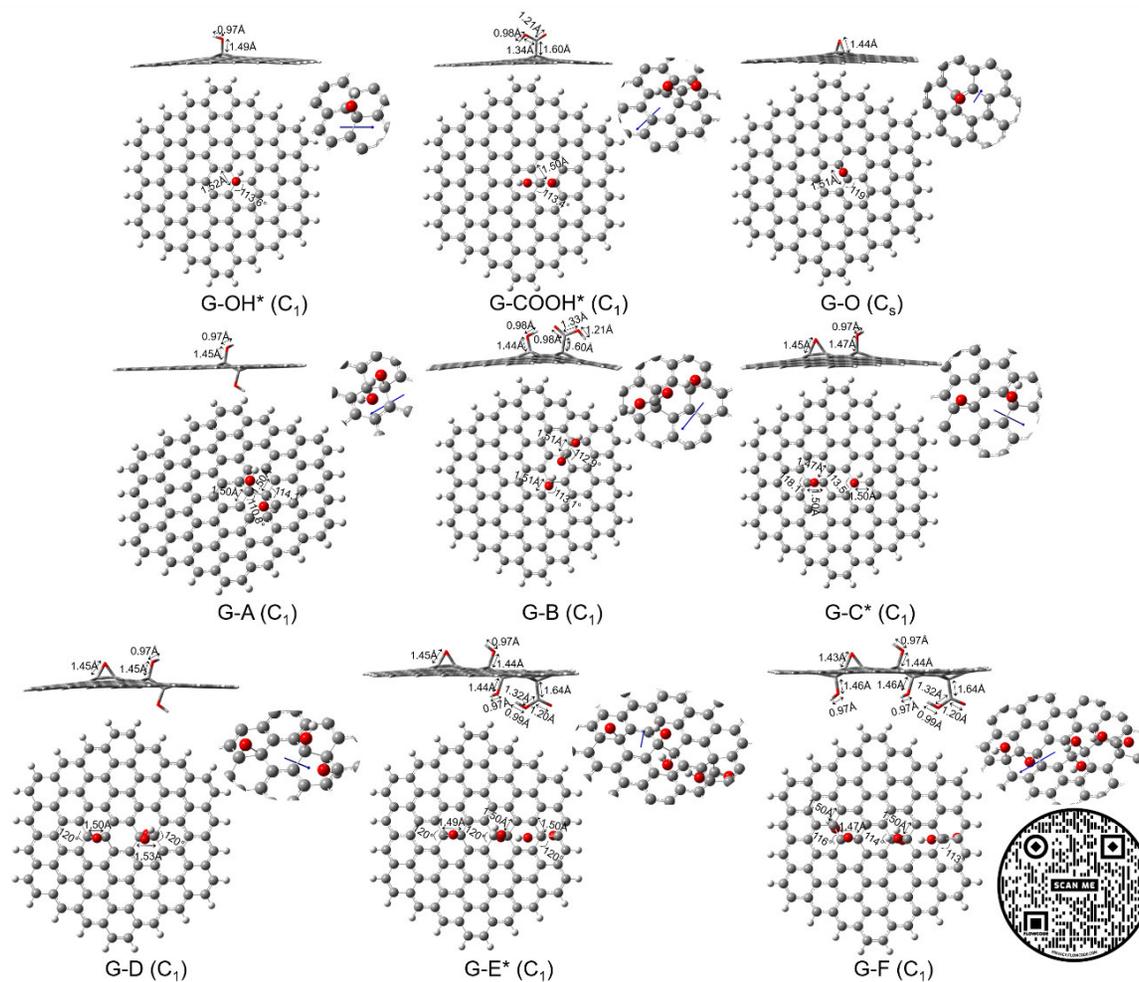


En los modelos de óxido de grafeno, las distancias C3-C16, C3-C2 y C3-C4 también incrementan, teniendo valores de 1.46 Å hasta 1.51 Å cuando se tiene el grupo funcional más voluminoso -COOH, como se puede ver en la **Fig. 23** (cuenta con código QR para poder ampliar la imagen). Como resultado para la mayoría de los sistemas se tiene una hibridación entre  $sp^2$  y  $sp^3$ , ver **Fig. 23**. Los grupos funcionales tienen una conformación antiperiplanar y los átomos de hidrógeno de los grupos -OH están orientados hacia la mitad de los anillos, probablemente por una interacción OH- $\pi$ , ver **Fig. 24**. También es posible encontrar puentes de hidrógeno que estabilizan al sistema. En G-COOH, hay un enlace de hidrógeno débil entre el átomo de hidrógeno del grupo -COOH y el átomo C16; en G-B hay dos enlaces de hidrógeno fuertes, uno entre el átomo de hidrógeno del grupo -COOH y el átomo C16 y, el segundo, entre el =O del grupo -COOH y el átomo de hidrógeno del grupo -OH; en G-E hay un enlace de hidrógeno fuerte entre el átomo de hidrógeno del grupo -COOH y el átomo de

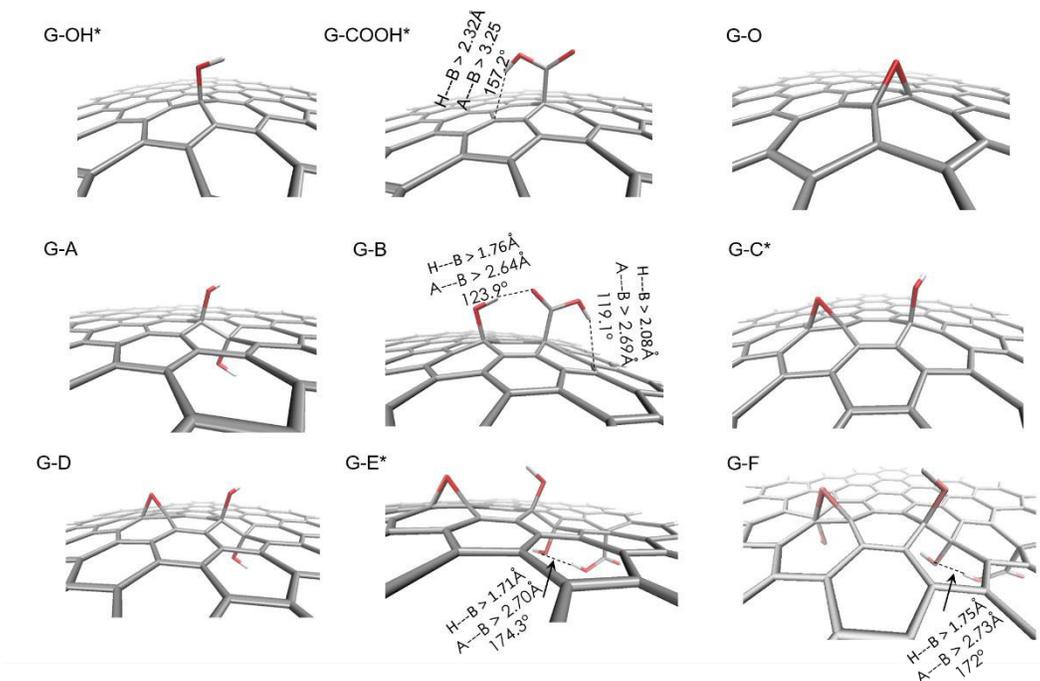
## GRAFENO Y DERIVADOS DE GRAFENO

oxígeno del grupo -OH cercano; y, por último, en G-F se presenta el mismo enlace de hidrógeno que en G-E.

## GRAFENO Y DERIVADOS DE GRAFENO



**Figura 23** Estructuras optimizadas con el nivel de teoría M06-2X/6-31G(d) de los modelos de óxido de grafeno mostrando valores de distancias, ángulos, grupos puntuales y vector de momento dipolar. En gris átomos de C, en blanco átomos de H y rojo, átomos de O. Para una ampliación de la figura, escanear el código QR.



**Figura 24** Sistemas optimizados en el nivel de teoría M06-L/6-31G(d) de óxido de grafeno mostrando datos geométricos de los enlaces de hidrógeno. Ver descripción en el texto.

Del mismo modo, se analizaron los enlaces C-C en Gi y Gii; ellos tienen hibridación  $sp^2$  y  $sp$ , en donde las distancias son 1.41-1.42 Å para  $sp^2$  y 1.22 Å para  $sp$ , ver **Fig. 20**. Algunos trabajos hablan sobre las distancias de enlace de este tipo de sistemas y han encontrado que estas distancias son dependientes en el funcional y conjunto base empleados; mientras que los datos experimentales muestran valores similares a los aquí reportados. Por último, se debe mencionar que los resultados no cambian tendencias al estudiar los sistemas en agua.

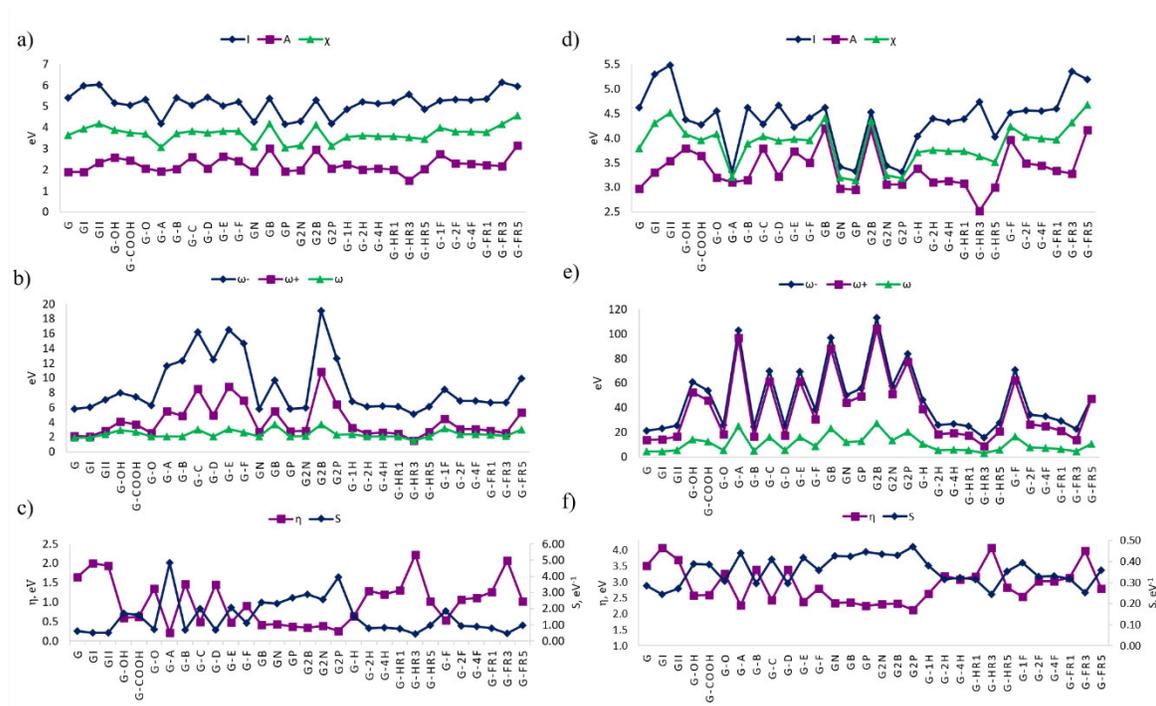
### V.3.4 Variación en los Descriptores Globales de la Reactividad

Las modificaciones químicas hechas en G cambian su comportamiento químico, lo cual fue analizado mediante los descriptores de la reactividad de la DFT Conceptual. Los valores de cada descriptor se comparan entre cada uno de los sistemas y el modelo G. Primero, en el análisis del descriptor  $I$ , tenemos a los siguientes sistemas con el valor más bajo GP>G-

## GRAFENO Y DERIVADOS DE GRAFENO

A>G2P>GN>G2N>G-HR5>G-1H>G-E>G-COOH>G-C>G-OH>G-C; mientras que en agua están G-A>G2P>GP>GB>G-HR5>G-1H>G-E>G-COOH>G-C>G-4H>G-OH>G-HR1; para estos sistemas es más fácil remover o donar un electrón que en G, especialmente para G dopado con P o B, algunos modelos de grafano y de óxido de grafano principalmente aquellos que tienen los grupos -COOH o -OH (ver **Fig. 25** y Apéndice A para consultar los valores). Por otro lado, en el análisis del descriptor A, los sistemas que tiene un valor más alto en comparación a G en gas son G-FR5>GB>G2B>G-1F>G-E>G-C>G-OH mientras que en agua son G-B>G2B>G-FR5>G-1F>G-C>G-OH; estos sistemas pueden aceptar un electrón más fácilmente que G, especialmente G dopado con B, fluorografano y algunos modelos de óxido de grafano que contienen grupos -OH. Este efecto puede ser debido al efecto de los hidrógenos de los bordes. Por otra parte, es posible ver que los sistemas con valores altos de  $I$ , también tienen un valor considerable de  $\eta$ , por lo que estos sistemas presentarán dificultades para donar un electrón.

## GRAFENO Y DERIVADOS DE GRAFENO



**Figura 25** Descriptores globales de la reactividad de los derivados de grafeno a nivel M06-L/6-31G(d). Los resultados en fase gas corresponden a a), b) y c); mientras que los resultados en fase agua corresponden a los incisos d), e) y f). En a) y d) se tienen las gráficas de los valores de los descriptores  $I$ ,  $A$  y  $\chi$ ; en b) y e) se tienen las gráficas de los valores de los descriptores  $\omega^-$ ,  $\omega^+$  y  $\omega$ . Los valores se pueden ver en el apéndice A y dentro del código QR.



Así mismo, al analizar los valores de  $\omega^+$  y  $\omega^-$  se puede que que sistemas tienen mayor facilidad de donar o aceptar carga electrónica, lo que incrementa la reactividad en comparación con G. Primeramente, los sistemas con mayor facilidad para aceptar carga electrónica (valor alto de  $\omega^+$ ) son GB>G2B>G-FR5>G1F>G-E>G-C>G-OH mientras que en agua son G2B>G-A>GB>G2P>G-1F>G-C>G-E. De forma similar, los sistemas que pueden donar carga electrónica con mayor facilidad que G (valor alto de  $\omega^-$ ) en gas son G-FR5>GB>G2B>G-1F>G-E>G-C, mientras que en agua son G2B>G-A>GB>G2P>G-1F>G-C>G-E. Como se puede ver en la **Fig. 25** la energía para donar carga electrónica tiene un valor más alto que su correspondiente valor para aceptar carga electrónica, esto implica que los sistemas derivados pueden aceptar carga electrónica con mayor facilidad que G. Este

comportamiento también se muestra en los modelos estudiados en la literatura GB, GN, GP, G-OH y G-COOH [205, 206].

El valor de la energía del *gap* HOMO-LUMO, indica si una molécula es dura o blanda de acuerdo el principio de ácido-base duro-blando propuesto por Pearson [216], y considerando al *gap* HOMO-LUMO como una aproximación a la dureza global de la DFT Conceptual. Este establece que un valor grande del *gap* indica que la molécula es dura y lo contrario si el valor es pequeño. Entonces, el *gap* de G, muestra que es un sistema ácido duro tanto en gas como en agua, por lo que podrá interactuar con bases duras. Mientras que, para los derivados de grafeno, los resultados indican que las modificaciones químicas realizadas a G los hacen sistemas más blandos, en donde se comportan como ácidos blandos teniendo los menores valores los siguientes en fase gas  $G-F < G2P < GP < G2N < G-C < G2B < GN < GB$  y en agua  $G-F < G2P < GB < G-O < GP < G2N < GN < G-C$ . En general, la energía del *gap* HOMO-LUMO se reduce para la mayoría de las modificaciones químicas, especialmente cuando se ha dopado con P o cuando se ha funcionalizado con -OH o -COOH.

Por último, los sistemas  $G_i$  y  $G_{ii}$ , muestran mayor afinidad para aceptar un electrón y carga electrónica que G; por otro lado, de acuerdo con el valor de  $\eta$ , son más duros que G. Similarmente, la energía del *gap* HOMO-LUMO está en el rango de los semiconductores, por lo que podría ser usado en diversas aplicaciones como los sensores [19]. De acuerdo con la energía del *gap* HOMO-LUMO,  $G_i$  y  $G_{ii}$  se comportan como mejores bases duras por lo que podrían interactuar con bases duras. Al igual que G, también se pueden realizar modificaciones químicas en estos sistemas que les permita ser usados en diversas aplicaciones, como en el transporte de fármacos [218].

### V.3.5 Descriptores Locales de la Reactividad

Previamente, se analizaron las distintas propiedades globales y cómo se afectan con las modificaciones químicas realizadas a G. Ahora, se analizarán los carbonos activos, que son los que están cercanos a los átomos o grupos añadidos; esto es con el fin de reducir el efecto que pueda tener el borde. En esta parte, además de analizar a los descriptores locales de la reactividad de la DFT Conceptual se analizará el mapa de potencial electrostático molecular (MEP). En el MEP, las zonas coloreadas en rojo corresponden a sitios con mayor densidad

## GRAFENO Y DERIVADOS DE GRAFENO

electrónica y, en azul, están los sitios con menor densidad electrónica. Además, se graficaron los orbitales frontera HOMO y LUMO como aproximaciones a las funciones de Fukui de *core* congelado.

En la **Fig. 26** se logra ver que los átomos de C en G tienen mayor densidad electrónica (color rojo), por lo que ellos podrán aceptar moléculas electrofílicas; mientras que en los bordes (color azul), los hidrógenos, podrán aceptar moléculas nucleofílicas. De igual manera, podemos ver esto en los orbitales HOMO y LUMO, que se pueden ver en el apéndice A. Mientras que las funciones condensadas de Fukui y la blandura local señalan los mismos átomos que los orbitales frontera como los más reactivos.

El carbono C16, ver **Fig. 18**, es el carbono más reactivo en la mayoría de los sistemas estudiados, por lo que se tomó como referencia para comparar los cambios en los valores de las funciones de Fukui y de blandura local de cada uno de los sistemas. En la **Tabla 3** se pueden ver dichos valores. En G, C16 tiene un valor alto para  $f_j^-$  y  $s_j^-$ , por lo que C16 es un buen sitio para aceptar nucleófilos.

## GRAFENO Y DERIVADOS DE GRAFENO

**Tabla 3** Funciones condensadas de Fukui y blandura local (en eV<sup>-1</sup>) de grafenos y sus derivados calculados en el nivel de teoría M06-L/6-31G(d) en fase gas.

Sistema	Etiqueta <sup>a</sup>	$f_j^+$	$f_j^-$	$s_j^+$	$s_j^-$
G	C16	0.0056	0.0168	0.0020	0.0021
Gi	-	0.0386	0.0277	0.0095	0.0068
Gii	-	0.0279	0.0231	0.0076	0.0063
GB	C16	0.0175	0.0152	0.0074	0.0065
GN	C16	0.0141	0.0179	0.0060	0.0076
GP	C16	0.0175	0.0152	0.0074	0.0065
G2B	C16/C2	0.0101	0.0102	0.0044	0.0044
G2N	C16/C2	0.0097	0.0123	0.0042	0.0054
G2P	C13/C16	0.0085	0.0134	0.0040	0.0063
G-1H	C16	0.0233	0.0239	0.0089	0.0091
G-2H	C16	0.0112	0.0117	0.0035	0.0037
G-4H	C16	0.0109	0.0122	0.0035	0.0040
G-HR1	C16/C13	0.0098	0.0091	0.0031	0.0029
G-HR3	C26	0.0091	0.0174	0.0022	0.0043
G-HR5	C40	0.0054	0.0059	0.0019	0.0021
G-1F	C16	0.0233	0.0197	0.0092	0.0078
G-2F	C14	0.0143	0.0113	0.0047	0.0037
G-4F	C16	0.0120	0.0108	0.0040	0.0036
G-FR1	C16	0.0108	0.0098	0.0034	0.0031
G-FR3	C35/C32	0.0162	0.0140	0.0041	0.0035
G-FR5	C33/C31	0.0009	0.0008	0.0003	0.0003
G-OH	C16	0.0243	0.0213	0.0095	0.0083
G-COOH	C16	0.0222	0.0213	0.0086	0.0083
G-O	C14/C49	0.0120	0.0095	0.0037	0.0029
G-A	C6/C39	0.0162	0.0085	0.0072	0.0038
G-B	C39	0.0170	0.0128	0.0050	0.0038
G-C	C16	0.0205	0.0187	0.0084	0.0077
G-D	C41/C39	0.0157	0.0086	0.0046	0.0025
G-E	C18/C49	0.0125	0.0087	0.0052	0.0036
G-F					

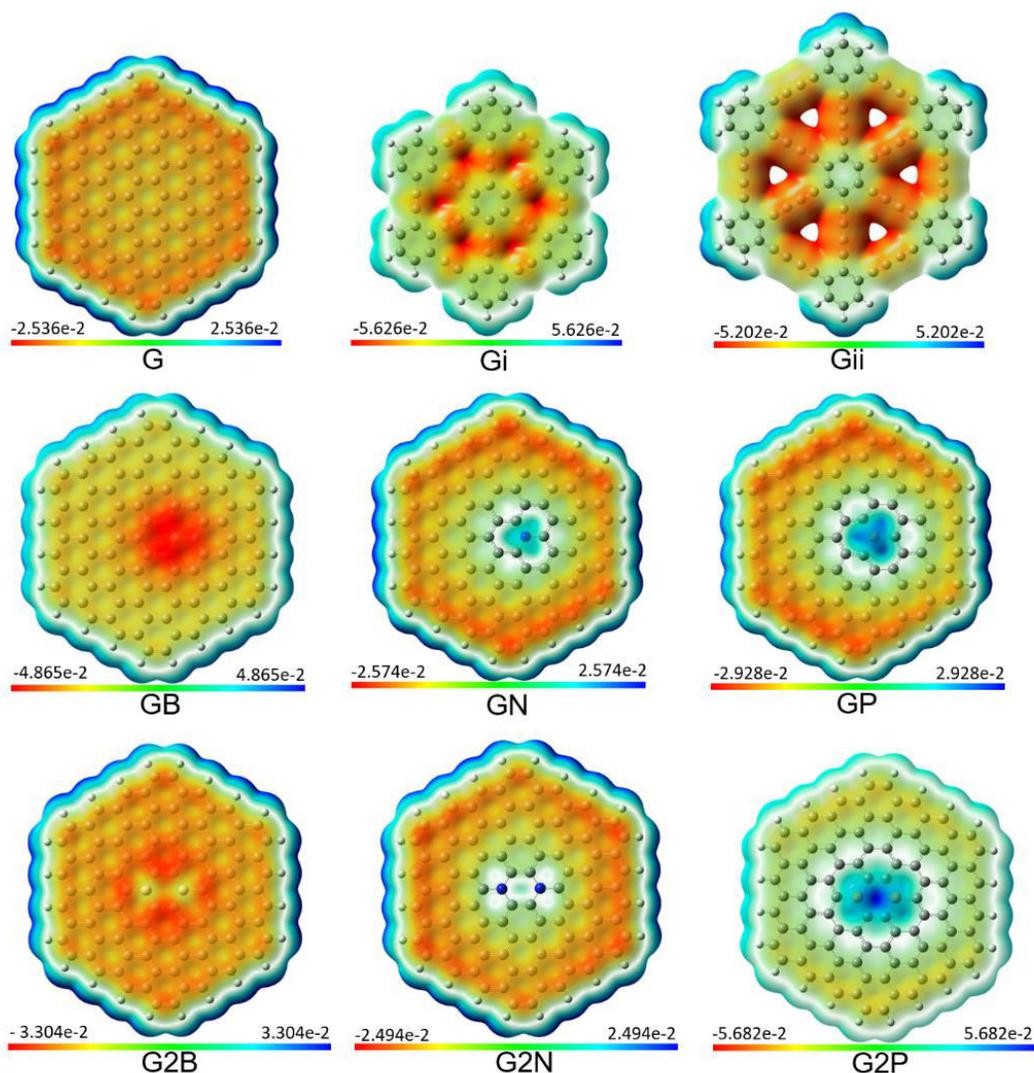
<sup>a</sup> Están etiquetados dos átomos de carbono que por simetría comparten el mismo valor. Para Gi y Gii se tomó en cuenta un átomo cerca del borde.

Con las modificaciones químicas realizadas a G, se ve que la densidad electrónica cambia en todo el sistema. Por ejemplo, en GB y G2B, los modelos de óxido de grafeno y de fluorografeno, **Figs. 26, 27 y 28**, podemos ver que la densidad electrónica (zonas en rojo de los MEPs) en los sitios modificados incrementa, con lo que se favorece más la interacción con electrófilos en ese sitio; pero a la vez podrán interactuar con mayor facilidad con nucleófilos en los carbonos en los que disminuyó su densidad electrónica. Todo lo anterior coincide con los orbitales frontera que se muestran en el apéndice A. Por otro lado, en los sistemas GN, GP, G2N, G2P y grafano se ve una disminución en la densidad electrónica

## GRAFENO Y DERIVADOS DE GRAFENO

(zonas en color azul) debido a que estos átomos provocan una mejora en la interacción con nucleófilos.

De los sistemas dopados, se ve que el átomo de B, así como el de P, crean cambios significativos en la distribución electrónica. En consecuencia, tener al G dopado con este átomo incrementa la posibilidad de interactuar con otras moléculas. Este comportamiento está en acuerdo con los trabajos de Cortés-Arriagada y de Saha [205, 206].



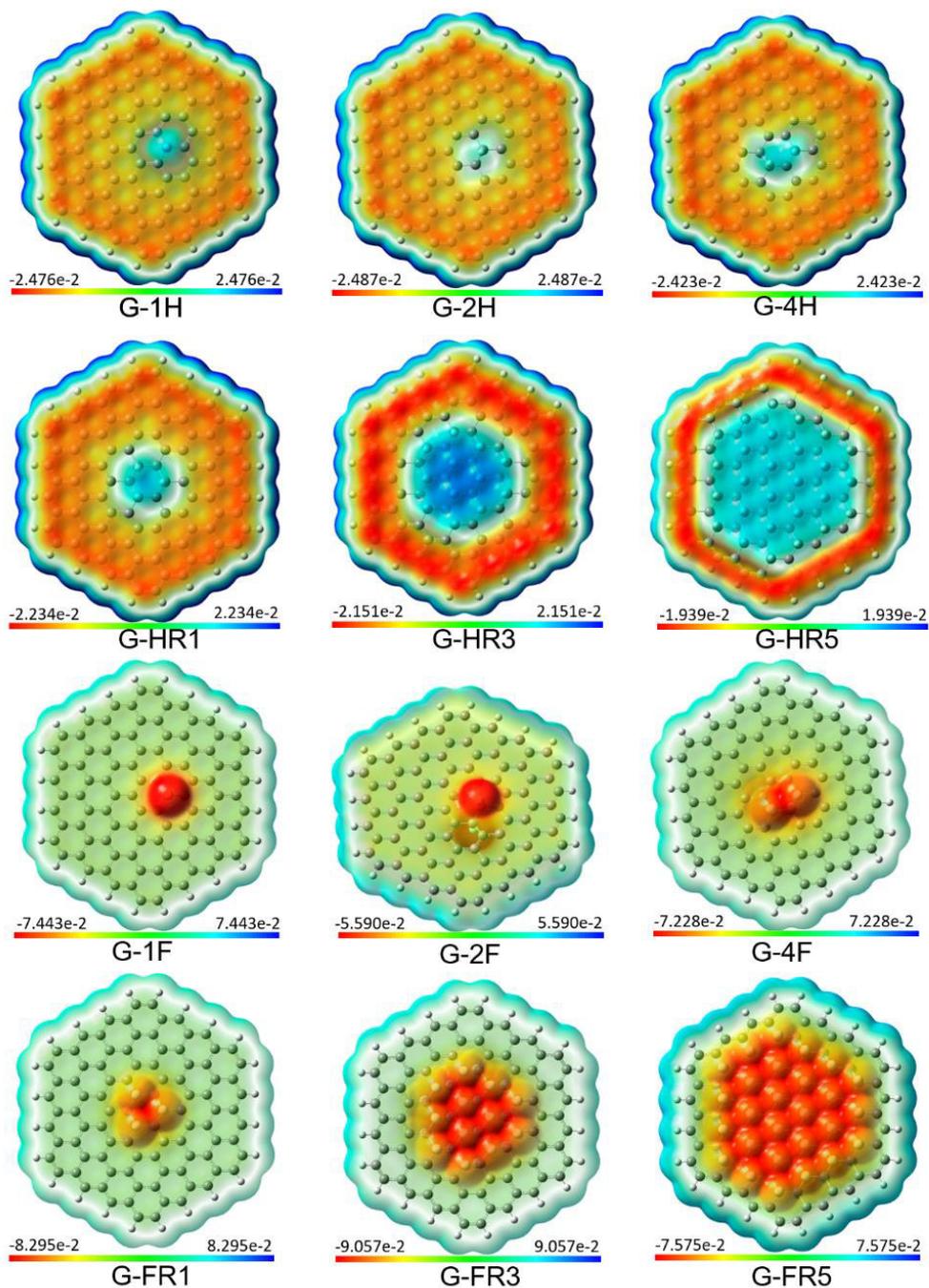
**Figura 26** Mapas de potencial electrostático molecular (MEP) para grafeno, grafino, grafidiino y grafeno dopado en el nivel de teoría M06-L/6-31G(d). El valor de la isosuperficie es de 0.0004 u.a.

## GRAFENO Y DERIVADOS DE GRAFENO

Para los sistemas de grafano y fluorografano se muestran cambios muy significativos en la distribución de la densidad electrónica a comparación de los sistemas dopados. Sin embargo, al ver los valores de las funciones de Fukui y de blandura local, la reactividad de C16 no incrementa significativamente, excepto en G-1F en donde ese átomo incrementa sustancialmente la reactividad. Entonces, la reactividad al ir aumentando el número de átomos funcionalizados se desplaza hacia los bordes, como se puede ver en los orbitales frontera del apéndice A. Además, los valores de las funciones de Fukui, blandura local y MEP indican que grafano no incrementa significativamente la reactividad con respecto a G, por lo que su interacción con otras moléculas sería débil.

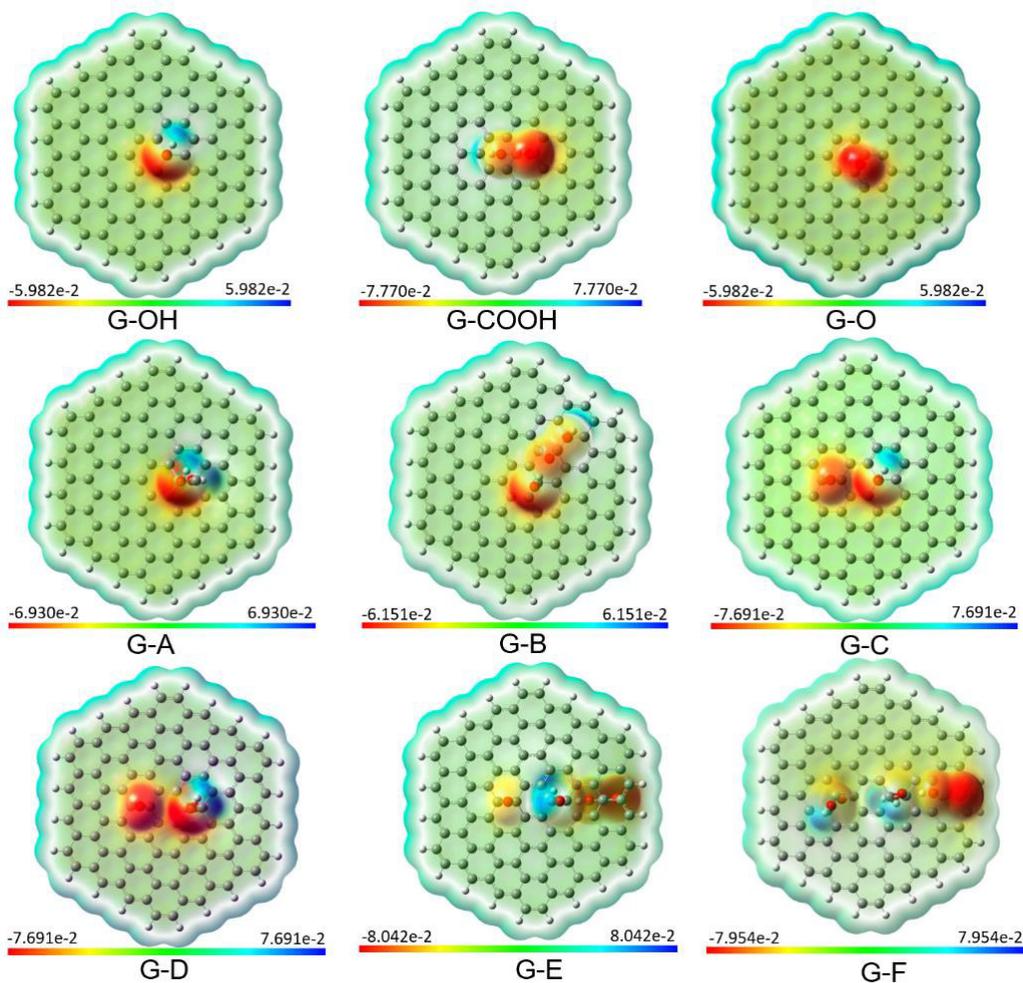
En los modelos de óxido de grafeno, se ve que los grupos funcionales modifican aún más la distribución electrónica, principalmente al tener los grupos -COOH y -OH, así, el óxido de grafeno junto con el fluorografano son los mejores derivados para interactuar con otras moléculas. Finalmente, en Gi y Gii, las unidades acetilénicas son las que tienen mayor densidad electrónica como se ve en la **Fig. 26**, que es mayor que G, lo que les permitirá tener mejor interacción con otras moléculas que G.

## GRAFENO Y DERIVADOS DE GRAFENO



**Figura 27** Mapas de potencial electrostático molecular (MEP) para grafeno, grafino, grafidiino y grafeno dopado en el nivel de teoría M06-L/6-31G(d). El valor de la isosuperficie es de 0.0004 u.a.

## GRAFENO Y DERIVADOS DE GRAFENO



**Figura 28** Mapas de potencial electrostático molecular (MEP) para grafeno, grafino, grafidiino y grafeno dopado en el nivel de teoría M06-L/6-31G(d). El valor de la isosuperficie es de 0.0004 u.a.

### V.3.6 Estimación de la Toxicidad

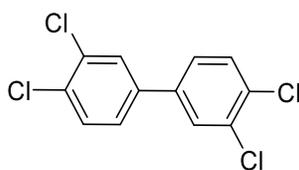
Como se ha mencionado anteriormente, el objetivo es proponer sistemas que sean buenos transportadores y liberadores de fármacos, hasta el momento se modelaron algunos derivados de grafeno y evaluamos como, con algunas modificaciones químicas, cambian sus propiedades, favoreciendo la quimisorción y fisorción de moléculas, por lo que ahora hay que evaluar su posible toxicidad.

Se han reportado varios trabajos experimentales que evalúan la toxicidad de los materiales basados en grafeno, como se expuso en el capítulo I. Sin embargo, es un procedimiento muy costoso, por ello mediante descriptores de DFT Conceptual de la

## GRAFENO Y DERIVADOS DE GRAFENO

reactividad química y propiedades como el *gap* HOMO-LUMO y el momento dipolar procedemos ahora a evaluar la toxicidad de los derivados de G. Trabajos computacionales han correlacionado la toxicidad de insecticidas orgánicos usados comúnmente en casa y policlorobifenilos con descriptores moleculares como el momento dipolar, orbitales frontera, MEP, entre otros. [219–222].

El *gap* HOMO-LUMO está asociado con el nivel de dureza y blandura de un sistema, y se refiere a la diferencia de energía que existe entre la banda de valencia (HOMO) y la banda de conducción (LUMO). El *gap* HOMO-LUMO es un indicador de la estabilidad entre moléculas similares. Las moléculas blandas están caracterizadas por tener un *gap* pequeño, siendo más reactivas; mientras que un *gap* grande implica mayor estabilidad de las moléculas con respecto a las reacciones con biomoléculas [221, 223]. Este se ha correlacionado con la bioacumulación de compuestos como los policlorobifenilos, de tal manera que si hay un aumento en el valor del *gap* de una molécula cuando se absorbe en el organismo, la molécula se estabiliza y se hace más difícil de metabolizar tendiendo a bioacumularse y, por tanto, resultar ser tóxica. El *gap* HOMO-LUMO está relacionado con el descriptor de la reactividad  $\eta$ , un valor grande indica que la molécula es dura y un valor pequeño indica que es blanda. Por lo tanto, se aprecia que los nanomateriales que presentan un *gap* HOMO-LUMO bajo y  $\eta$  bajo, podrían resultar tóxicos. Para comparar los datos obtenidos se tomaron como referencia o control los valores del 3,3',4,4'-tetraclorobifenilo (bphenil), **Fig. 29**.

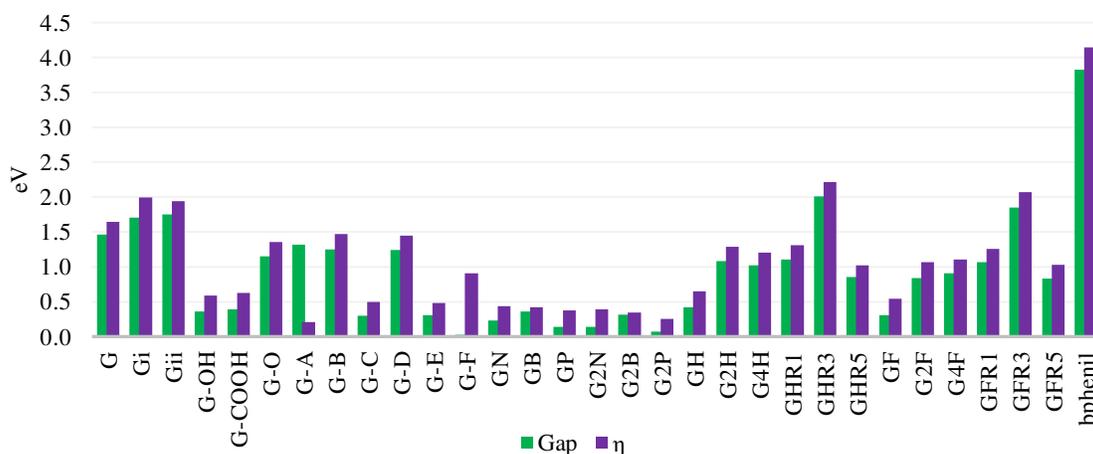


**Figura 29** Estructura del 3,3',4,4'-tetraclorobifenilo.

En la **Fig. 30**, se ve que todos los sistemas tienen un valor de *gap* pequeño, indicando que estos sistemas son posiblemente tóxicos, esto tiene sentido porque se ha mencionado que los nanomateriales basados en grafeno no funcionalizados son tóxicos [137, 224]. Los modelos con un valor de *gap* bajo son los grafenos dopados, los modelos de G-C, G-OH, G-F del óxido de grafeno y GF de los modelos de fluorografeno. También se nota que el *gap* del bifenilo es mayor que la de los modelos estudiados, señalando la posible toxicidad de

## GRAFENO Y DERIVADOS DE GRAFENO

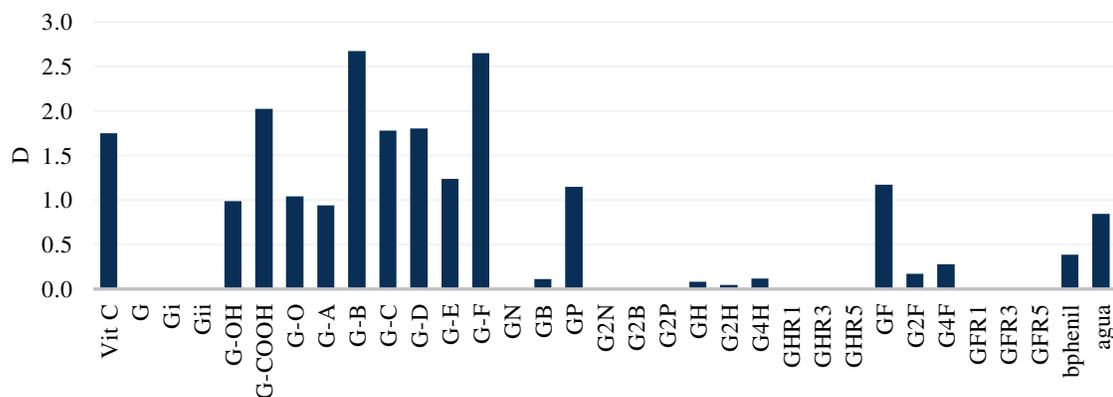
estos sistemas. El *gap* es también indicador de que estos sistemas son más reactivos en consecuencia serán más fáciles de funcionalizar que todos los demás.



**Figura 30** *gap* HOMO-LUMO y  $\eta$  en fase agua de los derivados de grafeno y 3,3',4,4'-tetraclorobifenilo (bphenil) en M06-L/6-31G\*\*/PCM.

Otra de las propiedades correlacionadas en la literatura con la toxicidad es el momento dipolar [220]. Se ha encontrado que momentos dipolares bajos pueden estar relacionados con la bioacumulación inmediata en el tejido adiposo, correspondiente a moléculas lipofílicas; mientras que las moléculas con momentos dipolares altos son solubles en medios polares, hidrofílicas. Las moléculas más polares son más fáciles de excretar por vía renal o hepática. En la **Fig. 31**, se muestran los valores de los nanomateriales y como comparación se tomaron los valores de la vitamina C que es hidrosoluble y del bphenil que es liposoluble; también se muestra el valor del agua como referencia del medio polar. Como resultado, se observa que, de todos los sistemas estudiados, los modelos de óxido de grafeno son los más polares, siguiendo GP y GF del fluorografeno.

## GRAFENO Y DERIVADOS DE GRAFENO



**Figura 31** Valores del momento dipolar para los derivados de grafeno, Vit C y bphenil en fase agua calculados al nivel M06-L/6-31G\*\*/PCM.

Los modelos estudiados serían relativamente reactivos; de estos, el modelo más completo de óxido de grafeno G-F y el modelo GFR5 del fluorografeno son modelos con la reactividad más alta que podrán funcionalizarse para formar los nanovectores. El fluorografeno es el más prometedor y en este estudio se sugiere que podría ser una plataforma para el transporte de fármacos que actualmente no se ha estudiado.

## V.4 CONCLUSIONES

Se llevó a cabo un extenso estudio para comprender y describir los cambios en la reactividad debidos al dopaje y la funcionalización en los sistemas de grafeno y cómo esto modifica su capacidad para posibles interacciones con otras moléculas, como ciertos fármacos.

Es importante mencionar que algunas características del nivel de teoría y modelos estructurales o computacionales elegidos, debido a la complejidad de los sistemas estudiados y al costo computacional, pueden hacer que algunas propiedades computadas sean menos precisas que otras. Este es el caso, por ejemplo, de nuestra elección para el modelo de disolvente PCM; para estos modelos de solventes, los errores en las energías de solvatación son mayores en el caso de los aniones en comparación con los cationes. Esto se puede mejorar si se tienen en cuenta explícitamente las moléculas de agua, aunque el aumento en el costo computacional está más allá del alcance de este trabajo. El modelo de solvente, aunque más simple y menos preciso, proporciona información sobre las tendencias de los cambios en la reactividad de nuestra muestra de sistemas en agua en comparación con la fase gaseosa.

## GRAFENO Y DERIVADOS DE GRAFENO

En el análisis de las características estructurales de todos los sistemas, se encontró que la hibridación  $sp^3$  está presente en las distancias C-C dopadas/funcionalizadas más cercanas, mostrando enlaces piramidalizados. Así mismo, se prefiere la conformación antiperiplanar para los átomos unidos. En consecuencia, el dopaje o la funcionalización de G cambia su estructura y algunas propiedades. Este último se ha correlacionado con los valores calculados de los índices conceptuales de reactividad DFT Conceptual. Por ejemplo, los valores bajos de  $I$  y  $\omega^-$  muestran que los sistemas dopados con átomos de P o B, el G prístino y el grafeno con un grupo -OH o -COOH, así como los sistemas con valores más altos de  $A$  y  $\omega^+$  tales como el fluorografeno completo y el grafeno dopado con átomos de B, pueden permitir fácilmente la adsorción de diferentes especies en ellos.

Además, estos sistemas pueden aceptar cargas de electrones más fácilmente que el G prístino, mejorando su posible quimisorción. Con los índices de descriptores locales calculados, se pueden ver los sitios específicos donde las moléculas externas pueden tener una buena interacción en los sistemas de grafeno. Con los índices de descriptores locales, vemos que debido al aumento de la densidad de electrones en los sitios donde se realizó la modificación, esto aumenta su capacidad para interactuar con moléculas electrofílicas y con moléculas nucleofílicas, especialmente para el modelo completo de óxido de grafeno, grafeno con -COOH o grupo -OH, fluorografeno completo y G dopado con un átomo de P. Además, se encuentra que  $G_i$  y  $G_{ii}$  son mejores para aceptar electrófilos, y esto podría mejorarse con modificaciones químicas como las realizadas en G prístino. Por lo tanto, estos sistemas podrían mejorar su potencial para ser utilizados para la administración de fármacos.

Las modificaciones químicas del G prístino lo convierten en un sistema más blando. Según el principio HSAB, estos sistemas podrían interactuar más fácilmente con electrófilos o nucleófilos. En consecuencia, estos derivados de G son susceptibles de personalización de sus propiedades electrónicas a través de una funcionalización controlada, como se analiza sistemáticamente en este trabajo. Nuestro modelo finito elegido no pretende representar el sistema de grafeno prístino (extendido) sino más bien las escamas de grafeno (finitas). Sin embargo, en los carbonos alejados del borde uno tiene la idea de la situación del sistema extendido, es decir, se podría considerar que en los átomos de R3, **Fig. 18**, el ambiente químico es similar al grafeno extendido. Los átomos de R3 no tienen efecto de borde. Luego,

## GRAFENO Y DERIVADOS DE GRAFENO

con el análisis de los descriptores locales de reactividad, se puede establecer una idea sobre el comportamiento que tiene el grafeno cuando es modificado químicamente. Pero ciertamente, nuestro principal objetivo es modelar hojuelas o *flakes*, que experimentalmente son muy prometedoras para aplicaciones químicas. De hecho, el modelo de *flakes* tiene un *gap* bien definido mientras que el grafeno no tiene *gap* [204]; como se puede observar en el apéndice A, en nuestro modelo finito para el grafeno y derivados, HOMO y LUMO tienen fuertes contribuciones de la región de cobertura que no serían activas en la reactividad del grafeno prístino (extendido), pero que ciertamente se esperan en el finito, *capped flakes*. Esta situación también está presente en los otros sistemas derivados y es prometedora para otros sitios de funcionalización química.

En la evaluación de toxicidad, como se esperaba, los modelos mostraron que podrían ser tóxicos, pero presentan buena reactividad para ser funcionalizados, bajar su toxicidad y aumentar su biocompatibilidad. Por lo tanto, se puede esperar la posibilidad de fabricar derivados G adecuados para ser utilizados en varias aplicaciones tales como biomédicas, transporte de fármacos y biosensores

---

# CAPÍTULO VI

## ANTIOXIDANTES DE PRODUCTOS NATURALES (EXÓGENOS)

---

### VI.1 INTRODUCCIÓN

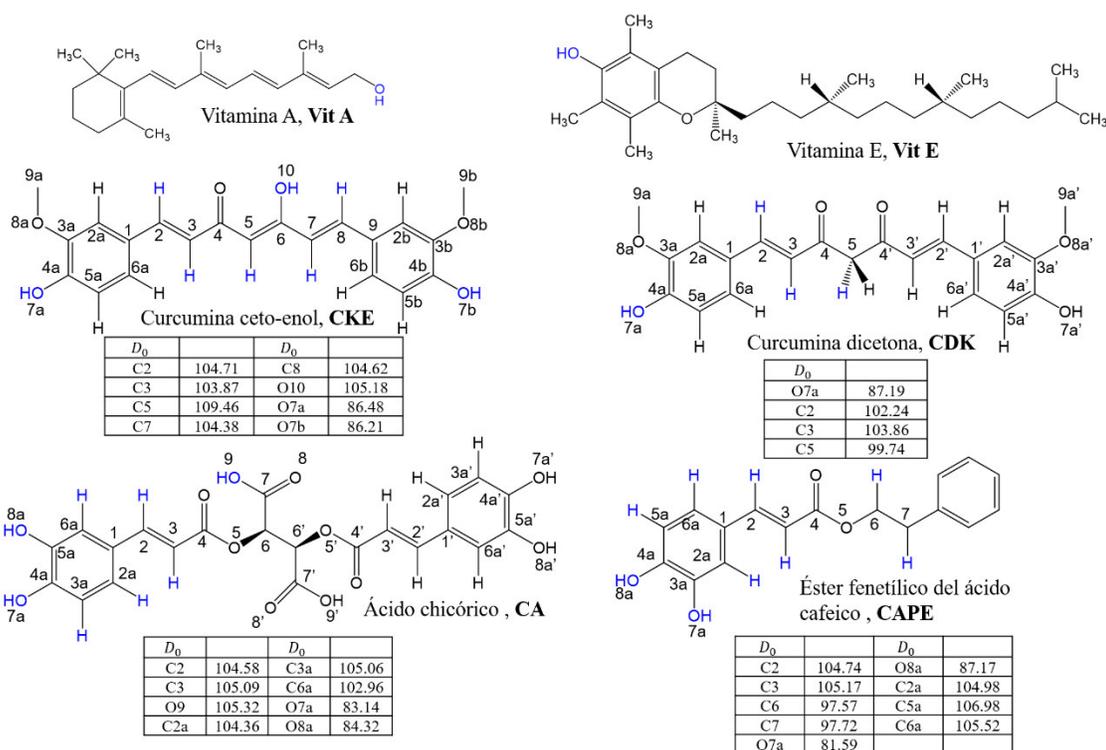
En este capítulo se muestran las propiedades y mecanismos de acción de los tautómeros de curcumina, el éster fenético del ácido cafeico (CAPE) y el ácido chicórico (CA) estudiados mediante la DFT; estos son antirradicales (AR) exógenos. Diversos grupos de investigación han realizado estudios teóricos para explorar los mecanismos y propiedades antirradicalarias para obtener nuevos antirradicales. Este es el caso de las moléculas producidas por algunas plantas como; el licopeno, un carotenoide rojo presente en tomates, melón, guayabas, etc. [225]; la silibina de una planta medicinal, *Silybum* [226]; la curcumina, un pigmento amarillo anaranjado derivado de los rizomas de la *Curcuma longa* [75]; así como vitaminas como la vitamina C y A [227, 228]. Estos estudios muestran los resultados de evaluar diferentes mecanismos de acción como mecanismos primarios: la transferencia electrónica simple (SET) y la transferencia de átomos de hidrógeno (HAT). Esos resultados describen las propiedades estructurales que son importantes para la actividad antirradical; además, estas propiedades son útiles contra los radicales libres (RL). En conclusión, estos trabajos han puesto sobre la mira moléculas exógenas que pueden ser buenos AR.

Hay estudios experimentales y teóricos recientes sobre las moléculas exógenas que sugieren que ellos pueden ser buenos antioxidantes, estos son: la curcumina [73]; el CA un derivado del ácido cafeico presente en la *Echinacea purpurea*, una hierba medicinal, y en las hojas de albahaca, *Ocimum basilicum* [76, 77]; y CAPE, un compuesto químico polifenólico presente en el propóleo de las colmenas de las abejas [82]. Estos estudios sugieren que estos compuestos son buenos antioxidantes; sin embargo, su mecanismo de acción y sus propiedades antirradicalarias aún no han sido bien descritas. Por lo

## ANTIOXIDANTES DE PRODUCTOS NATURALES (EXÓGENOS)

anterior, en este trabajo se pretende obtener algunos de sus mecanismos de acción, propiedades y analizar cuál de ellos podría ser un mejor AR.

Se estudiaron los dos tautómeros de la curcumina (ceto-enol de la curcumina y el diceto de la curcumina), el CA, el CAPE, las vitaminas A y E, ver **Fig. 32**, para ello se usaron los descriptores globales de la reactividad de la DFT Conceptual [155], el Log  $P$ , la energía de Gibbs de solvatación, la biodisponibilidad y la toxicidad. En cuanto a los mecanismos se evaluaron SET, HAT y la inhibición de la xantina oxidasa (XO), una enzima generadora de especies reactivas de oxígeno [229]. Finalmente, para conocer qué átomos están involucrados en el proceso de donación y aceptación de electrones de un RL se usó el mapa de potencial de ionización y el mapa del  $|\text{LUMO}|^2$ .



**Figura 32** Estructuras químicas de los antirradicales estudiados en este capítulo. En color azul están los átomos de hidrógeno usados para los estudios de deshidrogenación. En las tablas se presentan los valores de la energía de disociación de enlace de un átomo de hidrógeno ( $D_0$ ). Todos los valores están en kcal/mol.

## VI.2 METODOLOGÍA

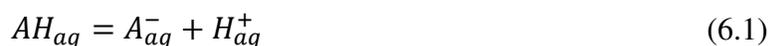
Todos los cálculos electrónicos fueron realizados con el paquete Gaussian09 [181]. Los mínimos locales fueron identificados por la ausencia de frecuencias imaginarias. Se preparó un estudio comparativo con diferentes métodos de la DFT para validar la metodología computacional que se describen en la sección de resultados. Se seleccionaron ocho niveles de teoría para comparar los valores calculados con la referencia del potencial de ionización ( $I$ ) de la Vit A. Los valores calculados de  $I$  en los ocho niveles de teoría fueron comparados con el valor de  $I$  experimental, 6.95 eV [230]. Además, se comparó el tiempo computacional para Vit E y Vit A en cada nivel de teoría. El modelo de solvatación continuo basado en la densidad (SMD) [175] fue usado para incluir los efectos del solvente de agua ( $\epsilon = 78.36$ ) y de pentiletanoato ( $\epsilon = 4.7297$ ) para simular los efectos del medio fisiológico y del ambiente lipídico.

### VI.2.1 Búsqueda Conformacional

Se realizó previamente una búsqueda conformacional en Spartan 08 [231] con ayuda de la utilidad ‘*Conformer distribution*’ con el campo de fuerza MMFF. La búsqueda se restringió a 10,000 conformeros para obtener 10 conformeros finales de menor energía sin simetría. Los 10 conformeros fueron reoptimizados en el nivel de teoría B3LYP/6-31+G\*. Finalmente, los conformeros de menor energía o cercanos al de menor energía, para cada molécula fueron reoptimizados en el nivel de teoría final M06-2X/6-31+G\*, que es el seleccionado después de la calibración.

### VI.2.2 Cálculo del $pK_a$

Para simular cualquier molécula bajo condiciones fisiológicas (fase acuosa), es importante conocer que forma ácido/base prevalecerá, ya que sus posibles interacciones inter e intramoleculares dependen en ello. Con esta finalidad, es necesario conocer el valor del  $pK_a$ . Entonces, se estimó el valor del  $pK_a$  para todos los AR en estudio usando el esquema de intercambio de protón [232]. En este trabajo se usó el método directo, ciclo A, que emplea las siguientes ecuaciones:



$$pKa = \frac{\Delta G_{soln}^*}{RT \ln(10)} \quad (6.2)$$

Para esto, algunos de los valores que se necesitan fueron tomados del trabajo Ho y Coote [232].

### VI.2.3 Variación en los Descriptores Globales de la Reactividad

Las propiedades electrónicas fueron obtenidas por los descriptores globales y locales de la reactividad de la DFT Conceptual, discutidos en el capítulo II: potencial de ionización vertical ( $I$ ), afinidad electrónica vertical ( $A$ ), electronegatividad ( $\chi$ ), dureza química ( $\eta$ ), blandura absoluta ( $S$ ), electrofilicidad ( $\omega$ ), potencia electrodonadora ( $\omega^-$ ) y potencia electroaceptora ( $\omega^+$ ). Estos se consiguieron mediante cálculos simples sin relajación de la geometría de los conformeros de menor energía con el nivel de teoría M06-2X/6-31+G\*.

### VI.2.4 Energía de Solvatación y Log $P$

La energía de solvatación de Gibbs ( $\Delta G_{solv}^\circ$ ) es una propiedad para la descripción termodinámica de una solución.  $\Delta G_{solv}^\circ$  describe la población relativa de las especies químicas en la solución y en la fase gaseosa en el equilibrio. Como resultado,  $\Delta G_{solv}^\circ$  ayuda a conocer la preferencia de una fase sobre otra de las moléculas [233], en este caso la fase acuosa sobre la fase gaseosa. Esta se calcula por

$$\Delta G_{solv}^\circ = G_{solvent} - G_{gas} \quad (6.3)$$

Es necesario tener la energía de Gibbs de la estructura optimizada en gas ( $G_{gas}$ ), en agua y en pentiletanoato ( $G_{solvent}$ ).

El valor de Log  $P$  es el coeficiente de partición octanol/agua que mide la hidrofobicidad de un compuesto, así se puede conocer su permeabilidad a la membrana [234]. El valor de Log  $P$  fue calculado para cada estructura optimizada en Spartan 18 [63] con la utilidad QSAR. Spartan 18 calcula el Log  $P$  usando las predicciones basadas en relaciones cuantitativas de estructura actividad (QSAR) de Ghose, Pritchett y Crippen [235].

### VI.2.5 Biodisponibilidad y Toxicidad

Las reglas de Lipinski, de Ghose y los criterios de Verber permiten cálculos sencillos de valores de las propiedades para conocer la farmacocinética de un fármaco en el cuerpo humano, como es la absorción, la distribución, metabolismo y la excreción (ADME). Estas reglas dan un excelente pronóstico de si una molécula producirá un fármaco activo en humanos. Las reglas de Lipinski establecen que las moléculas de los fármacos deberían tener no más de 5 donadores de enlaces de hidrógeno (HDB), no más de 10 aceptores de enlaces de hidrógeno (HBA), un peso molecular (MW) por debajo de los 500 uma, un valor de Log  $P$  menor de 5. Las reglas de Ghose establecen que los fármacos deberían tener un valor de Log  $P$  entre -0.4 y 5.6, una refractividad molar (AMR) entre 40 y 130 cm<sup>3</sup>/mol, MW entre 160 y 480 uma y, un número de átomos (nAtom) entre 20 y 70. Finalmente, los criterios de Verber establecen que los fármacos deberían tener no más de 10 enlaces rotables (nRB), no más de 12 HDB y, un área superficial polar (PSA) igual o menor a 140 Å. Aquellas moléculas que violan más de una regla pueden tener problemas de biodisponibilidad. Estos valores fueron obtenidos usando los programas Spartan 18 [63] y DruLiTo.

Para evaluar la toxicidad se empleó el programa *Toxicity Estimations Software Tool* (T.E.S.T.). Este programa hace sus predicciones usando QSAR de distintas bases de datos. Los descriptores calculados en este trabajo para estimar la toxicidad fueron la dosis letal media (LD<sub>50</sub>) y la Mutagenicidad (M). LD<sub>50</sub> es la cantidad de material (en mg/kg) que causa la muerte del 50% de las ratas después de ingestión oral. M, es también conocida como la prueba de Ames, es un bioensayo bacterial para evaluar la mutagenicidad<sup>VIII</sup> causada en el ADN de la *Salmonella typhimurium*.

### VI.2.6 Transferencia Electrónica Simple (SET)

Para investigar el mecanismo SET, ec. 6.4, se utilizaron dos estrategias gráficas. La primera estrategia gráfica es el mapa total donador-aceptor de electrones (FEDAM) que evalúa el proceso de transferencia electrónica entre AR y RL. El FEDAM grafica el potencial de ionización ( $I$ ) contra la afinidad electrónica ( $A$ ). Como consecuencia, FEDAM provee

---

<sup>VIII</sup> Producción de alteraciones del material genético celular (genes, cromosomas) que da lugar a una modificación permanente.

## ANTIOXIDANTES DE PRODUCTOS NATURALES (EXÓGENOS)

información acerca de la habilidad de una molécula para aceptar o donar un electrón a ciertos RL [236]. En este trabajo se usaron los RL:  $OH^\bullet$ ,  $NO_2^\bullet$ ,  $HOO^\bullet$  y  $CH_3O^\bullet$ . Estos RL fueron seleccionados para representar a RL que contienen oxígeno, carbono y nitrógeno. La segunda estrategia es el mapa donador-aceptor (DAM), este clasifica a cualquier molécula en términos de su capacidad para donar y aceptar. DAM es una herramienta útil para comparar diferentes moléculas de AR. En consecuencia, las moléculas pueden ser clasificadas de acuerdo con su capacidad de donación y aceptación en comparación con los átomos de F y Na usados como referencia o control. Entonces, es necesario graficar el índice de aceptación electrónica ( $Rd$ ) contra el índice de donación electrónica ( $Ra$ ) obtenidos por las ecuaciones 6.5 y 6.6.



$$Ra = \frac{\omega_L^+}{\omega_F^+} \quad (6.5)$$

$$Rd = \frac{\omega_L^-}{\omega_{Na}^-} \quad (6.6)$$

### VI.2.7 Transferencia de átomos de hidrógeno (HAT)

El otro mecanismo evaluado es HAT, representado por la siguiente reacción,



Para HAT, también se estudió la energía de disociación de enlace de un átomo de hidrógeno ( $D_0$ ).



Se calcularon las energías de Gibbs adiabáticas para todas las reacciones. Se evaluó la acción antirradical de las moléculas en estudio con los siguientes RL:  $OH^\bullet$ ,  $NO_2^\bullet$ ,  $HOO^\bullet$  y  $CH_3O^\bullet$ .

### VI.2.8 Inhibición de la Xantina Oxidasa (XO)

Para los estudios *Docking* se usó la estructura de rayos X de *Bos Taurus* (90% homóloga con la de humano XO) con una resolución de 2.5 Å que contiene a su competitivo inhibidor, el ácido salicílico (SAL), con el código PDB: 1FIQ [237]. XO y sus ligandos fueron evaluados en el programa AutoDock Tools versión 1.5.6 y AutoDock 4.2.6, para los cálculos de *docking*

## ANTIOXIDANTES DE PRODUCTOS NATURALES (EXÓGENOS)

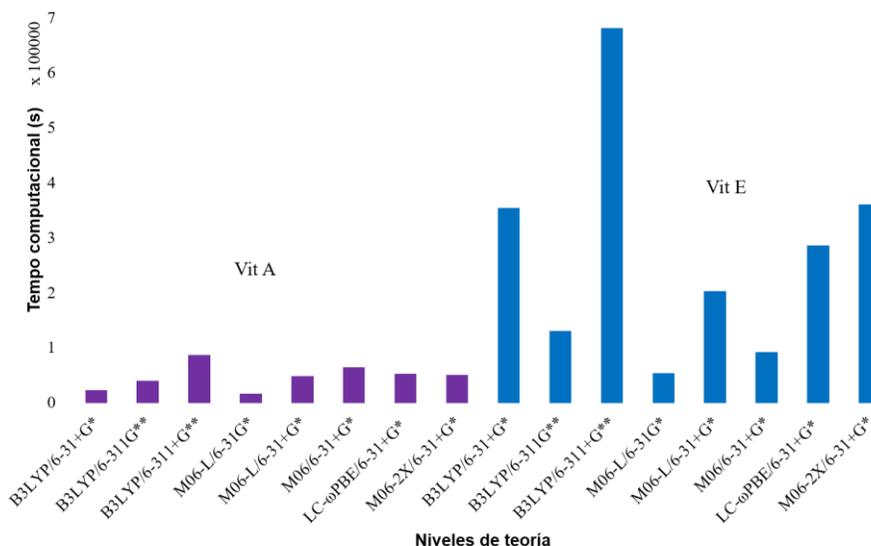
[238]. Así mismo, se calcularon las cargas de Kollman y se removieron las cadenas A y B de la proteína y pequeñas moléculas excepto, el cofactor de molibdopterina (MTE) y Mo (MOS) presentes en la subunidad C. Las cuadrículas para la evaluación tienen un espaciamiento de 0.375 Å y una caja de 40 x 40 x 60 puntos entrada en el punto 26.569 x 10.228 x 113.088 con el algoritmo genético lamarckiano. Para esto se realiza un *docking* flexible, en donde los residuos de la zona activa se dejan flexibles en el cálculo, estos son los residuos catalíticos LEU873, LEU648, GLU802, SER876, ARG880, PHE914, PHE1009, THR1010, VAL1011, LEU1014, ALA1079, GLU1261 y, los residuos importantes en la hidroxilación del sustrato xantina [239] GLU802, THR1010, ARG880, PHE914, PHE1009, LEU873, VAL1011 y LEU648. Todo el material gráfico fue preparado usando el programa Discovery Studio 2017 R2 Client (ver. 17.2.0, Accelrys Software Inc., San Diego, CA, USA).

### VI.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

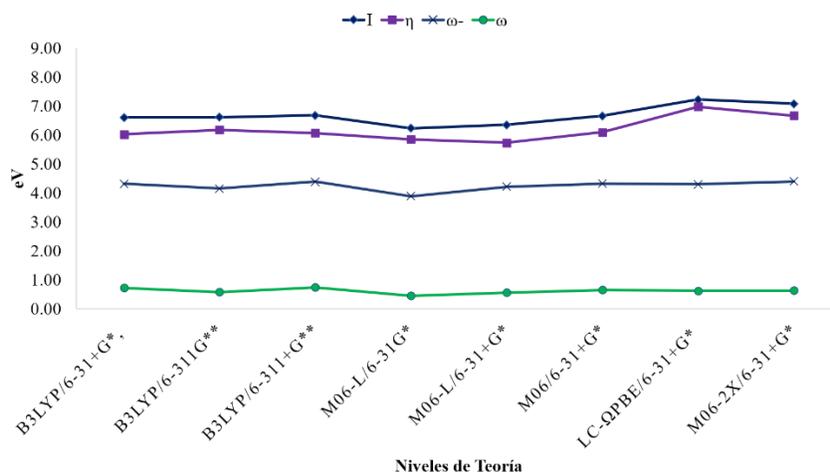
Para seleccionar el nivel de teoría más adecuado, se probaron los siguientes niveles de teoría B3LYP/6-31+G\*, B3LYP/6-311G\*\*, B3LYP/6-311+G\*\*, M06-L/6-31G\*, M06-L/6-31+G\*, M06/6-31+G\*, LC- $\omega$ PBE/6-31+G\* y M06-2X/6-31+G\*. Los seleccionamos por ser de los más empleados niveles de teoría en otros trabajos previos y algunos por su bajo costo computacional. Se comparó el % de error absoluto entre el  $I$  calculado y el valor de  $I$  experimental, **Fig. 32**. De acuerdo con el tiempo computacional, con los funcionales B3LYP, M06-L y M06-2X y conjuntos base pequeños es menos costoso obtener los cálculos de optimizaciones y frecuencias.

## ANTIOXIDANTES DE PRODUCTOS NATURALES (EXÓGENOS)

a)



b)



**Figura 33** a) Tiempo computacional en segundos de los cálculos de optimización y frecuencias para Vit A (en purpura) y Vit E (color azul) en diferentes niveles de teoría y b) Valores de los descriptores globales para Vit A en distintos niveles de teoría en eV.

En la comparación de los valores obtenidos para los descriptores globales:  $I$ ,  $\eta$ ,  $\omega$  y  $\omega^+$  en los distintos niveles de teoría se encontró una pequeña variación, aproximadamente  $\sim 1$  eV, ver **Fig. 33**. Finalmente, de acuerdo con los valores en la **Tabla 4**, el nivel de teoría M06-2X/6-31+G\* tiene un pequeño valor de error absoluto, por lo tanto, por su bajo costo computacional y su similitud con los datos experimentales, este nivel de teoría fue seleccionado para realizar los siguientes estudios.

## ANTIOXIDANTES DE PRODUCTOS NATURALES (EXÓGENOS)

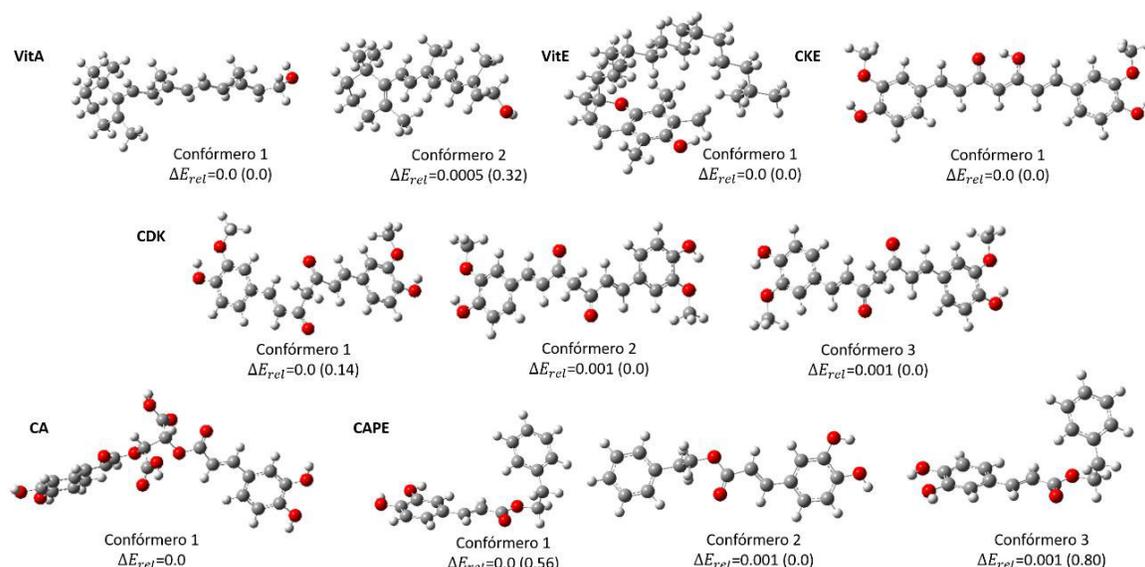
**Tabla 4** Potencial de ionización vertical ( $I$ ) calculada en eV para Vit A con diferentes niveles de teoría y % de error absoluto entre el  $I$  calculado y el valor de  $I$  experimental.

Nivel de teoría	$I$	% Error
<i>Vit A</i>		
B3LYP/6-31+G**	6.60	5.0
B3LYP/6-311G**	6.61	4.9
B3LYP/6-311+G*	6.68	3.9
M06-L/6-31G*	6.23	10.3
M06-L/6-31+G*	6.35	8.6
M06/6-31+G*	6.66	4.1
LC- $\omega$ PBE/6-31+G*	7.22	3.9
M06-2X/6-31+G*	7.08	1.9
Exp.	6.95	

### VI.3.1 Búsqueda Conformacional

Se usó el mínimo global y los conformeros más cercanos para examinar su reactividad con los descriptores globales de la reactividad de la DFT Conceptual, pero solo el conformero mínimo global fue usado para los estudios posteriores. Primeramente, con el nivel B3LYP/6-31+G\* se seleccionaron los conformeros cercanos al mínimo global con una diferencia en energías de hasta ~0.6 kcal/mol. Posteriormente, los conformeros fueron reoptimizados con el nivel de teoría M06-2X/6-31+G\*. Se comparó el valor de RMSD de los ángulos diedros para comparar los conformeros cercanos con el conformero mínimo global, **Fig. 34**.

## ANTIOXIDANTES DE PRODUCTOS NATURALES (EXÓGENOS)



**Figura 34** Conformeros de menor energía de cada molécula en fase gas con su energía relativa ( $\Delta E_{rel}$ ) en kcal/mol en el nivel de teoría M06-2X/6-31+G\*. En paréntesis, la  $\Delta E_{rel}$  en el nivel de teoría B3LYP/6-31+G\* en kcal/mol. En gris, se muestran los átomos de C, en blanco los átomos de H y en rojo, los átomos de O. Escanear código QR para ampliación y ver animaciones y abrir en Power Point.



Como resultado se encontraron dos conformeros con un valor de RMSD de  $127.19^\circ$  de diferencia. La diferencia entre los conformeros de Vit A se encuentra en la cadena alquílica. Para CDK, hay tres conformeros diferentes; en donde el conformero 2 tiene un valor de RMSD de  $229.18^\circ$  y el conformero 3 tiene un valor de  $74.48^\circ$ . Estos conformeros presentan varios cambios en la orientación del grupo metoxilo y de los grupos cetona. Para CAPE, hay tres conformeros diferentes; en el conformero 2 se tiene un valor de RMSD de  $149.54^\circ$  y del conformero 3 se tiene un valor de  $87.08^\circ$ . Los cambios principales en estos conformeros corresponden a la orientación del grupo fenilo, en donde para el conformero 2 este cambio es más significativo.

### VI.3.2 Cálculo del $pK_a$

De acuerdo con los valores de la **Tabla 5**, a pH fisiológico, todas las moléculas están en forma neutra. Como consecuencia, todas las moléculas fueron estudiadas en su forma neutra para estudiar sus propiedades antirradicales y mecanismos de acción antirradical.

## ANTIOXIDANTES DE PRODUCTOS NATURALES (EXÓGENOS)

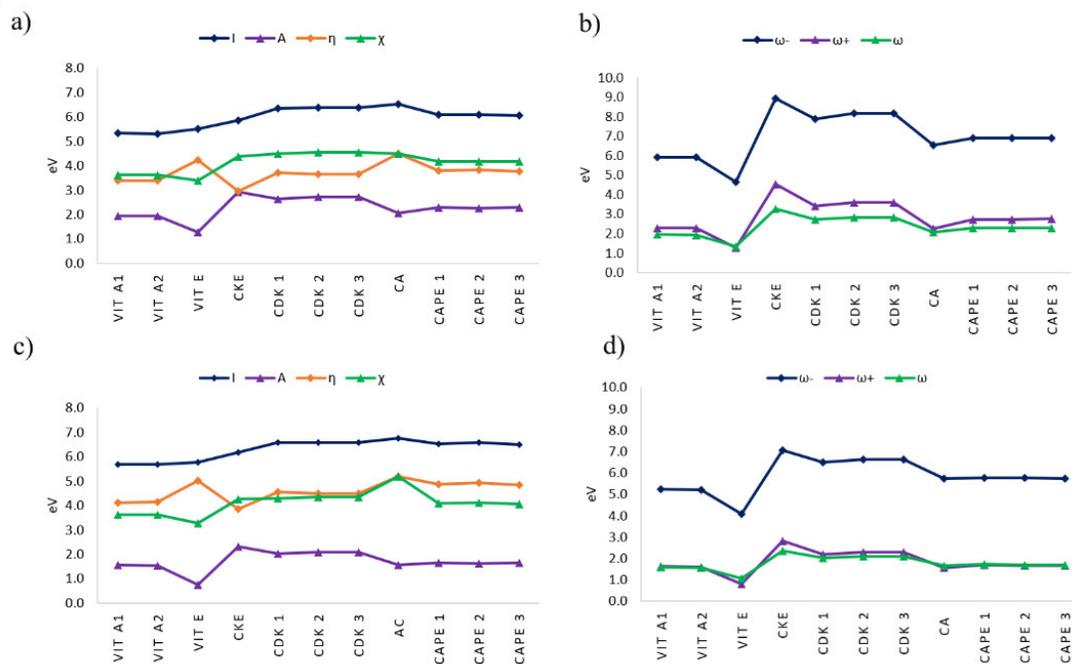
Primeramente, para conocer que átomo de hidrógeno está involucrado en la desprotonación, se seleccionaron los átomos de hidrógeno más ácidos correspondientes a los grupos -NH, -NH<sub>2</sub>, -COOH, -OH. Para Vit A, se estudió el átomo de hidrógeno del grupo -OH; para Vit E, el hidrógeno del grupo -OH. Para CDK, se seleccionaron los hidrógenos H7a y H7a' de los grupos -OH; para CKE, de acuerdo con el valor bajo de  $D_0$  que se muestra en la **Fig. 32**, se seleccionó a H7b del grupo -OH; para CA, se seleccionó al H7a y el H7a' de los grupos -OH, estos son los hidrógenos con el valor más bajo de  $D_0$ , **Fig. 32**; para CAPE, se estudió al H7a del grupo -OH. Los resultados obtenidos fueron comparados contra datos experimentales para validar la metodología, en los que se indica que CAPE [240], CA [80, 241] y curcumina [242] no están ionizados a pH fisiológico, 7.4. El  $pK_a$  experimental para la curcumina es de  $8.38 \pm 0.04$  [242] que coincide con nuestros resultados. Por otro lado, es conocido que el ciclo A del esquema de intercambio de protón no es exacto; sin embargo, los resultados encontrados coinciden en cuanto a tendencia con los resultados experimentales.

**Tabla 5** Primeros valores de  $pK_a$  y fracciones molares de las especies neutras ( $mf_{neutral}$ ) y aniónicas ( $mf_{anion}$ ) a pH=7.4 para Vit A, Vit E, CKE, CDK, CA y CAPE a estado estándar 1 M.

Molécula	$pK_a$	$mf_{neutral}$	$mf_{anion}$
Vit A	21.9	1.00	0.00
Vit E	15.0	1.00	0.00
CKE	8.7	0.95	0.05
CDK	8.3	0.89	0.11
CA	8.4	0.90	0.10
CAPE	8.2	0.86	0.14

### VI.3.3 Variación en los Descriptores Globales de la Reactividad

Para estudiar la transferencia electrónica entre AR y RL, se analizaron los descriptores de la reactividad de la DFT para CAPE, CA, curcumina, Vit A y Vit E. Como resultado, se encontró que CDK, CKE, CA y CAPE se comportan como antirreductores; mientras que las vitaminas, como antioxidantes. También, se encontró que todos son más reactivos en agua que en pentiletanoato, como se puede ver en la **Fig. 35**.



**Figura 35** Valores de los descriptores globales de la reactividad química para CAPE, CA, CDK, CKE, Vit A y Vit E con el nivel de teoría M06-2X/6-31+G\*. Donde a) y b) muestran los valores en agua y, c) y d) muestran los valores en pentiletanoato.

En la **Fig. 35** se presentan los valores de cada descriptor de la reactividad química. En **Fig. 35a** y **35c**, se ve que las moléculas con un bajo valor de  $I$  tienen el siguiente orden Vit A>Vit E> CKE>CAPE>CDK>CA, un valor bajo de  $I$  significa una alta probabilidad de perder un electrón; entonces, Vit A y Vit E presentan una mayor habilidad de donar un electrón hacia los RL. Así mismo, las moléculas con un alto valor de  $A$  son CKE>CDK>CAPE>CA>Vit A>Vit E. El valor alto de  $A$  significa altas probabilidades de ganar un electrón proveniente de los RL; de donde se destacan CKE, CDK y CAPE. Por otro lado, las moléculas con un bajo valor de  $\eta$  son CKE>Vit A>CDK>CAPE>Vit E>CA. En donde el valor bajo de  $\eta$  significa que son más reactivas (más blandas), resistiéndose menos

## ANTIOXIDANTES DE PRODUCTOS NATURALES (EXÓGENOS)

al cambio en el número de electrones o deformación de la nube electrónica. En cuanto, a la electronegatividad, un valor bajo indica que la molécula tenderá a dar un electrón más que a capturarlo, siendo Vit A y Vit E las que tienen el valor más bajo.

En **Fig. 35b** y **35d** las moléculas con un valor bajo de  $\omega$  están en el siguiente orden: CKE>CDK>CAPE>CA>VitA>VitE. De acuerdo con el trabajo de Domingo y colaboradores [243], las moléculas son fuertes electrófilos, si tienen un valor pequeño de  $\omega$  ( $<0.8$  eV), por lo que se espera que actúen como buenos captadores de RL vía transferencia electrónica. Del mismo modo, se logra apreciar que las moléculas con el mayor valor de  $\omega^+$  tienen el siguiente orden CKE>CDK>CAPE>Vit A>CA>Vit E. Un valor grande de  $\omega^+$  significa alta probabilidad de aceptar carga electrónica proveniente de RL, de estos se destacan CKE y CDK como los que más fácilmente podrán aceptar carga electrónica de todo el conjunto de moléculas. Igualmente, las moléculas con un bajo valor de  $\omega^-$  tienen el siguiente orden Vit E>Vit A>CA>CAPE>CDK>CKE. El valor bajo de  $\omega^-$  significa que hay una alta probabilidad de donar carga electrónica a los RL; de estos se pueden destacar Vit A y Vit E.

Esta tendencia fue observada tanto en agua como en pentiletanoato, encontrando que no hay diferencias en el comportamiento entre los diferentes conformeros de cada molécula.

### VI.3.4 Energía de Solvatación y Log *P*

Los cálculos de  $\Delta G_{solv}^\circ$  y Log *P* ayudan a conocer la solubilidad de una molécula en un solvente dado. En este caso CKE, CDK y CAPE resultaron ser lipofílicas de acuerdo con los valores de Log *P* y  $\Delta G_{solv}^\circ$ , que se muestran en la **Tabla 6**. Para validar el método, se compararon los resultados calculados de Vit A y Vit E que ya se conocen en la literatura.

## ANTIOXIDANTES DE PRODUCTOS NATURALES (EXÓGENOS)

**Tabla 6** Valores de Log  $P$  y energía de Gibbs de solvatación ( $\Delta G_{solv}^{\circ}$ ) para cada molécula en el nivel de teoría M06-2X/6-31+G\*/SMD.

Molécula	Log $P$	$\Delta G_{solv,w}^{\circ}$ (kcal/mol)	$\Delta G_{solv,p}^{\circ}$ (kcal/mol)
Vit C	-2.85	-22.98	-13.56
VitA	4.69	-6.82	-14.03
VitE	9.8	-4.86	-15.18
CKE	0.89	-16.57	-18.18
CDK	2.52	-17.93	-18.83
CA	1.78	-49.34	-32.44
CAPE	2.75	-15.32	-16.70

Los resultados de este trabajo señalan que Vit A y Vit E son lipofílicas y esto corresponde con lo que se reporta en la literatura [244, 245]. Entonces, esta metodología puede reproducir los datos experimentales de manera adecuada; sin embargo, se añadió la vitamina C (Vit C) como control, para tener como contraparte una molécula hidrofílica. Los resultados fueron favorables al corroborar su comportamiento hidrofílico con un valor de -2.81 de Log  $P$  y un valor más grande de  $\Delta G_{solv}^{\circ}$  en agua. En consecuencia, CDK, CKE y CAPE son más estables energéticamente en pentiletanoato que en agua como se ve en sus valores más altos de  $\Delta G_{solv}^{\circ}$ , en este medio. Ellos presentan una pequeña diferencia entre las energías obtenidas en agua y en pentiletanoato, esta pequeña diferencia es por su capacidad para atravesar la membrana celular por su carácter anfifílico. Por otro lado, para CA, el valor del Log  $P$  muestra que CA es lipofílico mientras que  $\Delta G_{solv}^{\circ}$  muestra que es hidrofílico; sin embargo, la diferencia de energías es pequeña. De acuerdo con el valor de  $pK_a$ , CA es principalmente, lipofílico y es bien sabido que los compuestos fenólicos tienen baja solubilidad en agua, por lo que se puede decir que CA se comportará como lipofílico.

### VI.3.5 Biodisponibilidad y Toxicidad

Para investigar el potencial uso de las moléculas como fármacos orales y su potencial aplicación terapéutica, se usaron distintos descriptores moleculares mencionados en las reglas de Lipinski, Ghose, en el criterio de Veber y, descriptores para la toxicidad. Los valores obtenidos se pueden ver en la **Tabla 7**. Como resultado se encontró que CKE, CDK y CAPE no violan más de una de estas reglas; en consecuencia, ellos no tendrían problemas de biodisponibilidad. Sin embargo, es importante destacar que estas reglas son empíricas, siendo solo una guía y no una regla que deba cumplirse. En cuanto a la toxicidad, un valor

## ANTIOXIDANTES DE PRODUCTOS NATURALES (EXÓGENOS)

bajo de M y un valor alto de LD<sub>50</sub> implicará una baja toxicidad para las moléculas; por lo tanto, CDK, CKE, CA y CAPE resultaron ser no tóxicos. Estos tienen un valor bajo y negativo de M y valor grande de LD<sub>50</sub>. Los resultados se compararon con los valores de moléculas control, la Vit C que es una molécula no tóxica y las moléculas tóxicas DDT (dicloro difenil tricloroetano) y pipobroman. Los resultados para DDT y pipobroman señalan que son tóxicas, corroborando que CDK, CKE, CA y CAPE no son tóxicas, por lo que resultan ser prometedoras para su administración oral y su aplicación terapéutica.

**Tabla 7** Descriptores moleculares, LD<sub>50</sub> oral en ratas y mutagenicidad de Ames (M) para CAPE, CA, CDK, CKE y los controles Vit A, Vit E, Vit C, DDT y pipobroman.

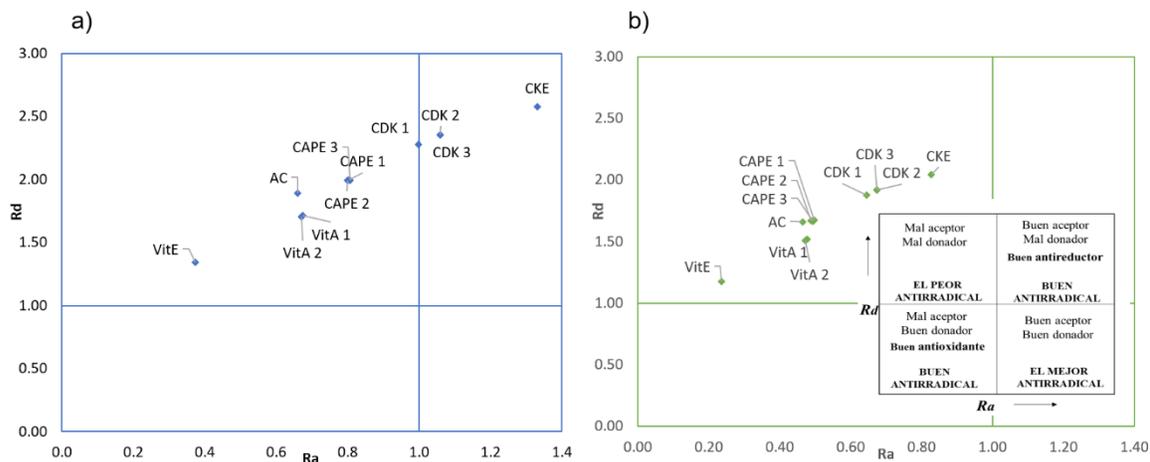
Molécula	LogP	PSA	HBD	HBA	MW	nAtom	nRB	AMR	LD <sub>50</sub>	M
VitA	4.69	20.158	1	1	286.46	51	5	96.76	1495.040	0.55 (+)
VitE	9.80	22.263	1	2	428.70	79	12	130.27	5742.540	0.08 (-)
CKE	0.89	75.675	3	6	368.39	47	7	113.73	987.190	0.05 (-)
CDK	2.52	77.935	2	6	368.39	47	8	111.70	1015.000	0.09 (-)
CA	1.78	183.561	6	12	474.37	52	11	120.05	4466.050	0.19 (-)
CAPE	2.75	57.156	2	4	284.31	37	6	88.38	3611.100	0.06 (-)
Vit C									11908.53*	0.29 (-)
DDT									87.01*	0 (-)*
Pipobroman									220.06*	1(+)*

\* Valores experimentales obtenidos en T.E.S.T.

### VI.3.6 Transferencia Electrónica Simple (SET)

Para evaluar el mecanismo SET, se usaron dos estrategias simples: el mapa DAM y FEDAM. En DAM se encontró que CDK y CKE son buenos antirreductores en agua, como se puede ver en la **Fig. 36**. CDK y CKE son débiles donadores de electrones y mucho mejores aceptores de electrones. Se puede notar que CDK y CKE poseen mejores propiedades antirradicales en agua que Vit A y Vit E. Este resultado puede ser debido a su estructura fenólica, ya que estos tienen más grupos -OH que Vit A y Vit E. Sin embargo, es notable que CDK y CKE tienen menos grupos -OH que CA, que presenta más dificultades para donar o aceptar electrones como se ve en los valores descriptores de la reactividad química.

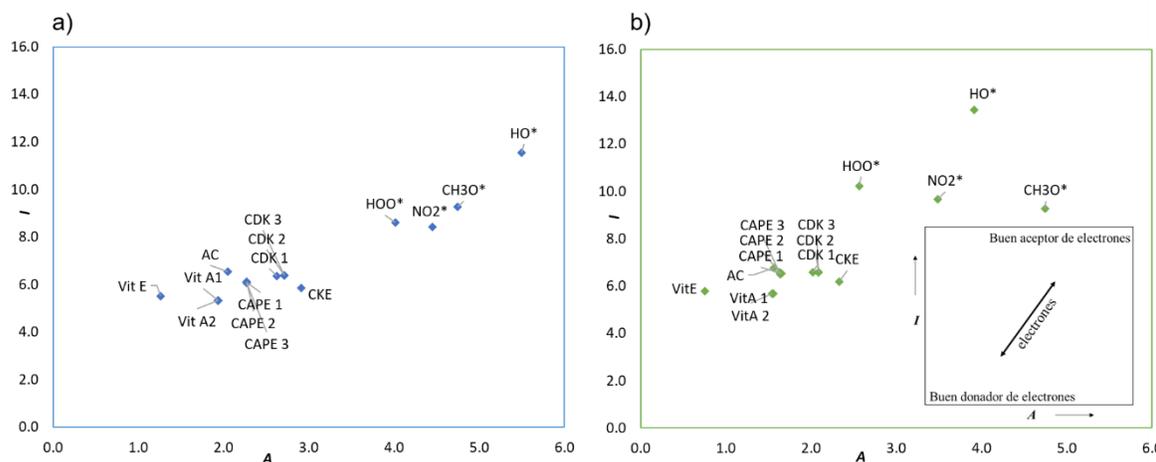
## ANTIOXIDANTES DE PRODUCTOS NATURALES (EXÓGENOS)



**Figura 36** Mapas DAM de las moléculas estudiadas para: a) moléculas en fase agua y b) moléculas en pentilacetato con el nivel de teoría M06-2X/6-31+G\*\*/SMD.

En la **Fig. 37** se muestran los resultados de las moléculas en el mapa FEDAM. El cual sirve como una evaluación rápida del proceso de transferencia electrónica para analizar la facilidad de donar o aceptar un electrón del RL. Las moléculas en la parte inferior y a la izquierda podrán transferir un electrón a los RL que están en la parte superior y a la derecha del AR; mientras que las moléculas que están cerca de los RL pueden aceptar un electrón de los RL más fácilmente. Como resultado, CDK y CKE, que están arriba y a la derecha del  $HOO^\bullet$ , podrían aceptar un electrón de este RL. Además, estos tienen un valor más alto de  $A$  que las otras moléculas, en ambos solventes. En consecuencia, se espera que CDK y CKE sean aceptores de un electrón del  $HOO^\bullet$ . En conclusión, solamente CDK y CKE muestran el mecanismo SET, principalmente en agua.

## ANTIOXIDANTES DE PRODUCTOS NATURALES (EXÓGENOS)



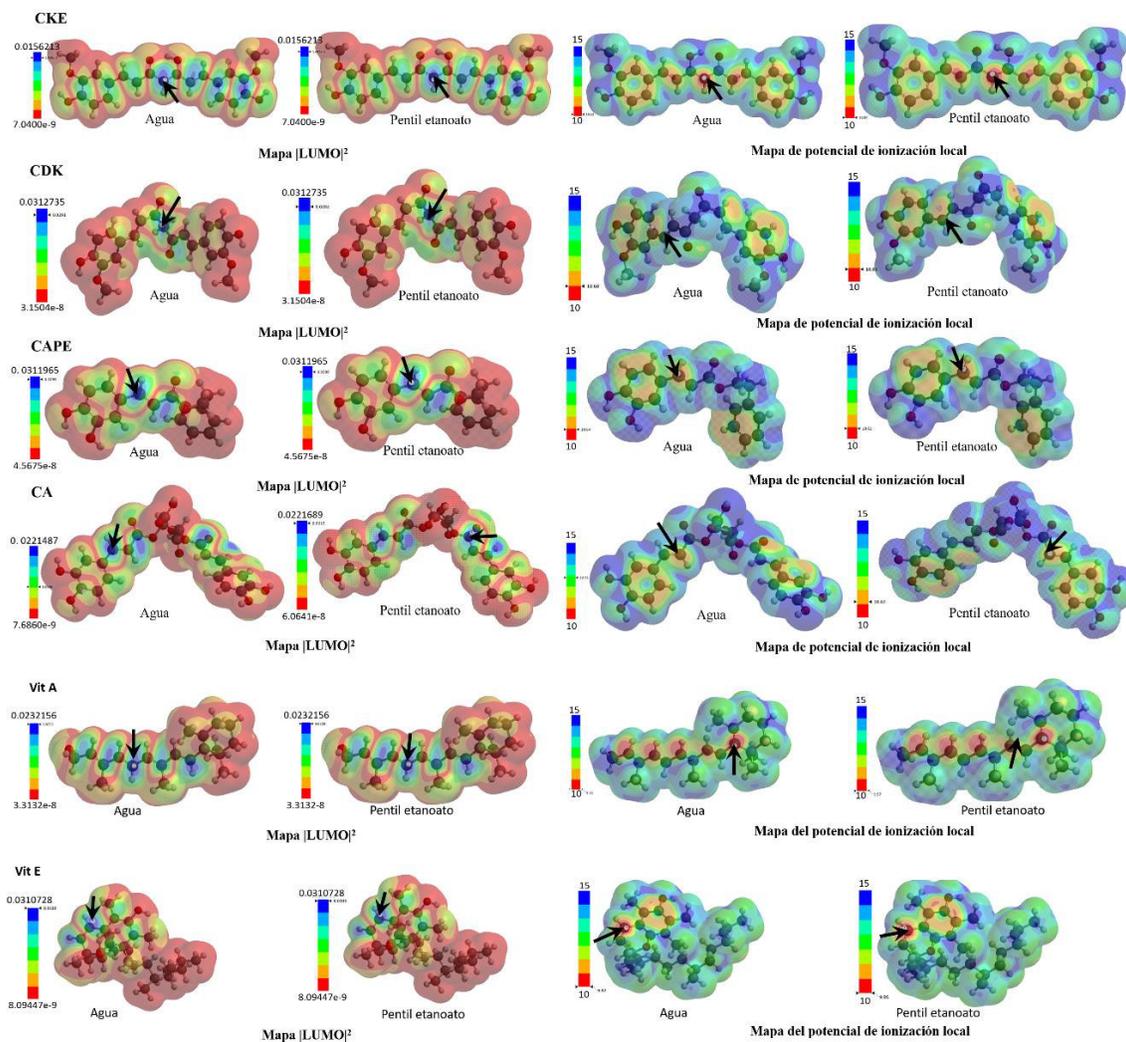
**Figura 37** Mapas FEDAM de las moléculas estudiadas para: a) moléculas en fase agua y b) moléculas en pentiletanoato con el nivel de teoría M06-2X/6-31+G\*/SMD.

Para conocer cuáles átomos pueden donar o aceptar carga electrónica de los RL, se propuso usar el mapa  $|LUMO|^2$  y el mapa del potencial de ionización local obtenidos en Spartan 18. El mapa  $|LUMO|^2$  muestra el valor absoluto del LUMO en la superficie de densidad electrónica por colores. El color azul indica una alta concentración de LUMO, mientras que el color rojo indica una baja densidad. El mapa  $|LUMO|^2$  muestra en dónde puede ocurrir un ataque nucleofílico, siendo el átomo en color azul el que podría aceptar con mayor facilidad un electrón de los RL.

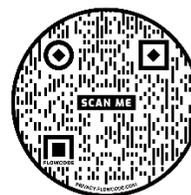
Por otro lado, el mapa del potencial de ionización local indica la facilidad o dificultad remover remover una cierta carga electrónica de un sitio dado en el sistema molecular. Este mapa muestra el valor del potencial de ionización en la superficie de densidad electrónica por colores. El rojo indica un valor bajo del potencial de ionización, mientras que el azul indica un valor alto; en consecuencia, los átomos en color rojo pueden donar un electrón con mayor facilidad a los RL. En este sentido, en la **Fig. 38**, en cada molécula se señalan los átomos, con una flecha negra, que pueden donar o aceptar electrones de los RL. Además, en ambos solventes se encuentran los mismos átomos; esto significa que el comportamiento de las moléculas en los dos solventes es similar. Con ayuda de los descriptores químicos de reactividad de la DFT Conceptual, se observa que CDK, CKE, CAPE y CA tienen dificultades para donar un electrón, pero no para aceptar electrones. Entonces, los átomos

## ANTIOXIDANTES DE PRODUCTOS NATURALES (EXÓGENOS)

mostrados en el mapa  $|\text{LUMO}|^2$  podrán aceptar un electrón proveniente de los RL. Además, se puede decir que agentes electrofílicos y nucleofílicos podrán interactuar fácilmente en estos sitios en sistemas biológicos.



**Figura 38** Mapas  $|\text{LUMO}|^2$  y mapas de potencial de ionización local de CKE, CDK, CAPE, CA, Vit A y Vit E. Las flechas negras indican los átomos que pueden aceptar o donar un electrón a RL. Para el mapa  $|\text{LUMO}|^2$  el color azul indica que átomo puede aceptar un electrón con mayor facilidad mientras que en el mapa de potencial de ionización local el color rojo indica a los átomos que podrán donar un electrón. Para ampliar la imagen utilizar el código QR anexo.



### VI.3.7 Transferencia de Átomos de Hidrógeno (HAT)

Se evaluó el mecanismo de transferencia de átomos de hidrógeno para todas las moléculas y se encontró que CA y CAPE son buenos antirradicales por este mecanismo. Se calculó la

## ANTIOXIDANTES DE PRODUCTOS NATURALES (EXÓGENOS)

energía de disociación para un átomo de hidrógeno ( $D_0$ ), los valores se encuentran en la **Fig. 32**, y la energía de Gibbs para la transferencia de átomos de hidrógeno de cada molécula con los RL:  $HO^\bullet$ ,  $NO_2^\bullet$ ,  $HOO^\bullet$  y  $CH_3O^\bullet$ . Para encontrar al mejor antirradical que sigue este mecanismo, se debe considerar al número de átomos de hidrógeno reactivos en la molécula y los valores de  $\Delta G$ ; valores negativos de  $\Delta G$  indican que la reacción es exergónica y es energéticamente posible. Los átomos de hidrógeno disociados que producen reacciones exergónicas son considerados como hidrógenos activos. En consecuencia, aquellas moléculas con varios átomos de hidrógeno activos son más reactivas; entonces, ellas pueden ser mejores antirradicales, al menos por este mecanismo de acción. El número de átomos estudiados y los más reactivos se encuentran en la **Tabla 8** (en el Apéndice B se encuentran las tablas con todos los valores). Para CKE se estudiaron ocho átomos de hidrógeno y para CAPE nueve. Por otro lado, CDK y CA tienen simetría, por lo que para no repetir resultados se tomó solo un lado de la simetría de la molécula. Así, para CDK se estudiaron cuatro enlaces de hidrógeno, pero con el detalle antes mencionado son ocho enlaces susceptibles para donar átomos de hidrógeno en total. Mientras que, para CA, se revisaron ocho y en total serían 16. Los resultados del análisis se resumen en la **Tabla 8**.

El AR más reactivo fue CA debido a que es más reactivo con todos los RL en ambos solventes. Además, es más reactivo en el pentiletanoato que en agua, como se puede ver en el Apéndice B y se resume en la **Tabla 8**. CA reacciona con todos los RL en el orden que se muestra entre paréntesis en la **Tabla 5**. Como se puede ver, CA actúa muy favorablemente con  $HO^\bullet$  y  $CH_3O^\bullet$  y, tiene un total de 16 átomos y cuatro átomos de hidrógeno activos, respectivamente. El segundo AR más reactivo es CAPE, con nueve átomos de hidrógeno frente a  $HO^\bullet$  y tres hidrógenos frente a  $CH_3O^\bullet$ , que son los RL con los que resultó ser más reactivo. En tercer lugar, se tiene al CDK y CKE con ocho hidrógenos reactivos. Ambas moléculas son más reactivas en agua. En los resultados previos, podemos ver que estas moléculas son lipofílicas; sin embargo, ellas pueden donar átomos de hidrógeno más fácilmente en agua. En todos los casos, el átomo de hidrógeno con mayor facilidad para ser removido es el hidrógeno ácido que se muestra en la **Fig. 32** con el menor valor de  $D_0$ , ver tablas del Apéndice B.

## ANTIOXIDANTES DE PRODUCTOS NATURALES (EXÓGENOS)

**Tabla 8** Átomos estudiados para el mecanismo de transferencia de átomos de hidrógeno en cada molécula. Esta tabla muestra el número de átomos reactivos con cada RL. En paréntesis se muestra, para cada reacción los átomos reactivos que van ordenados del más exergónico al menos.

molécula	# átomos	Agua				Pentiletanoato			
		OH <sup>•</sup>	CH <sub>3</sub> O <sup>•</sup>	HOO <sup>•</sup>	NO <sub>2</sub> <sup>•</sup>	OH <sup>•</sup>	CH <sub>3</sub> O <sup>•</sup>	HOO <sup>•</sup> ,	NO <sub>2</sub> <sup>•</sup>
CKE	8	<b>8 (1°)</b>	<b>2 (2°)</b>	<b>2 (3°)</b>	<b>2 (4°)</b>	5 (1°)	2 (2°)	2 (3°)	--
CDK	4/8*	<b>4/8*</b> (1°)	<b>3/6*</b> (2°)	<b>1/2*</b> (3°)	--	4/8* (1°)	2/4* (2°)	1/2*(3°)	--
CA	8/16*	6/12* (1°)	2/2* (2°)	2/4*(3°)	2/4*(4°)	<b>8/16*</b> (1°)	<b>2/4* (2°)</b>	<b>2/4* (3°)</b>	<b>2/4*</b> (4°)
CAPE	9	<b>9 (1°)</b>	<b>5 (2°)</b>	<b>2 (3°)</b>	<b>2 (4°)</b>	9 (1°)	3 (2°)	1 (3°)	1 (4°)

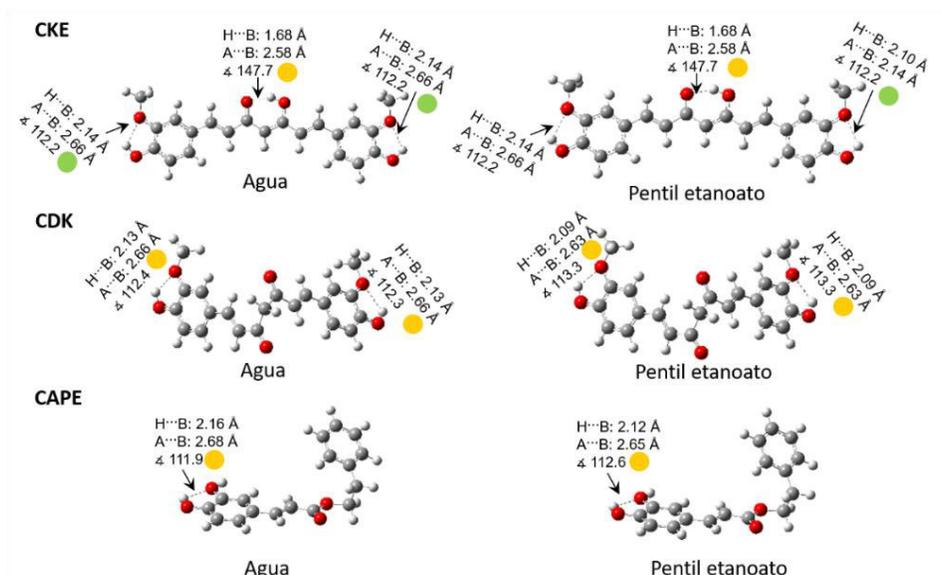
\* número total de átomos de hidrógenos

() en paréntesis orden de exergonicidad

-- reacción no exergónica

También se estudió la formación de enlaces de hidrógeno, estos resultan ser importantes para la transferencia de átomos de hidrógeno, ya que pueden incrementar el costo energético para removerlos, tal caso se ha comentado en trabajos previos [246]. Un enlace de hidrógeno fuerte es termodinámicamente más favorable; esto causa un valor alto de  $D_0$  y  $\Delta G$ ; en consecuencia, se tiene un potencial antirradical bajo. Se encontraron dos enlaces de hidrógeno, uno moderado y otro débil en CDK, CKE y CAPE como se puede ver en la **Fig. 39**. CKE y CDK tienen tres y dos enlaces de hidrógeno, respectivamente, mientras que CAPE tiene uno. CKE tiene dos enlaces de hidrógeno formados entre los grupos -OH del fenol y el grupo metoxilo, el otro enlace de hidrógeno moderado está en entre los grupos ceto y enol. Por último, CAPE tiene un enlace de hidrógeno moderado entre los grupos -OH. Estos enlaces de hidrógeno pueden ser la razón del porqué CDK y CKE tienen más dificultades para transferir sus átomos de hidrógeno más ácidos en comparación de CA y CAPE.

## ANTIOXIDANTES DE PRODUCTOS NATURALES (EXÓGENOS)

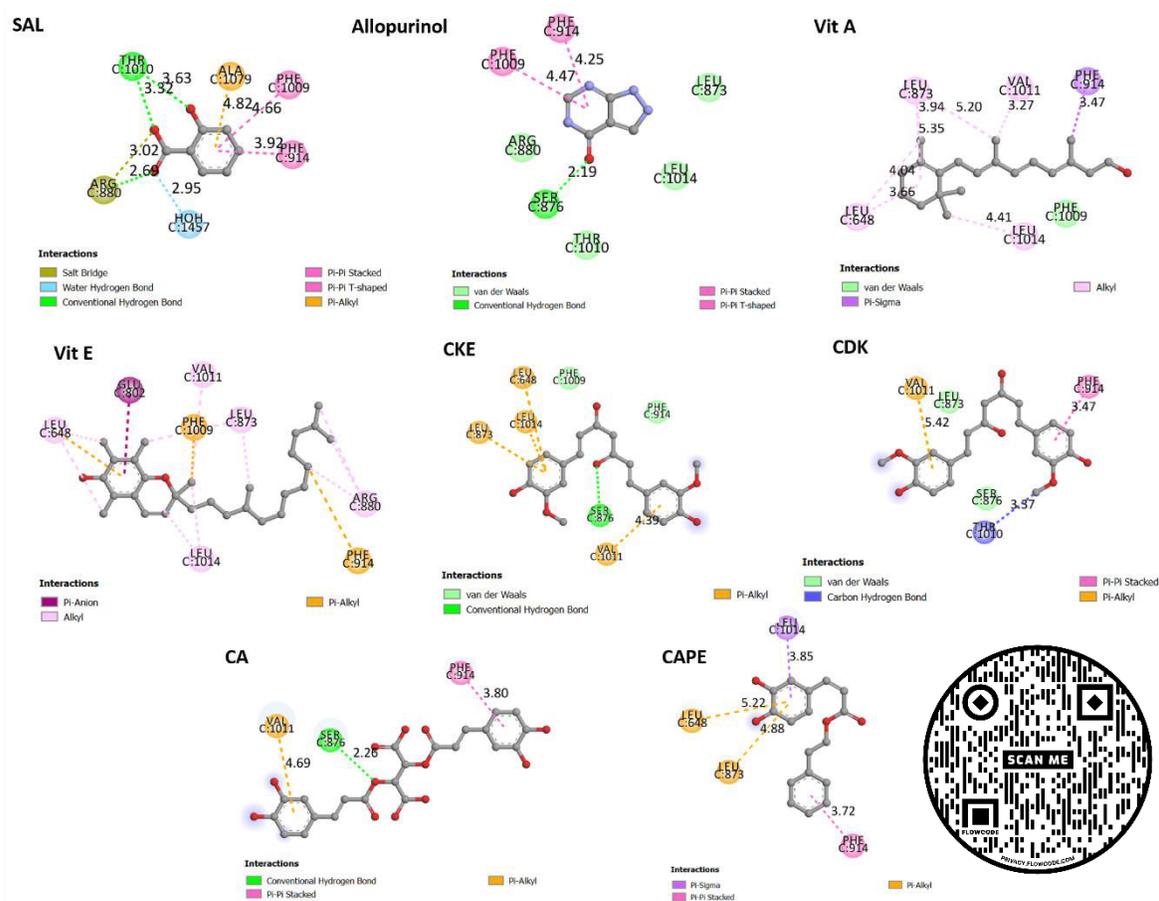


**Figura 39** Enlaces de hidrógeno para: CKE, CDK y CAPE en agua y en pentil etanoato con el nivel de teoría M06-2X/6-31+G\*. En donde ● indica un enlace débil de hidrógeno; mientras ● indica un enlace moderado de hidrógeno. En color gris se tienen a los átomos de C; en blanco, los átomos de H; y en rojo, los átomos de O.

### VI.3.8 Inhibición de la Xantina Oxidasa (XO)

XO es una enzima involucrada en el catabolismo de purinas en humanos. XO genera  $O_2^{\bullet-}$  y  $H_2O_2$  durante su mecanismo de reacción [31]. En consecuencia, XO genera cantidades significativas de RL; lo que implica que es una fuente importante de RL [247]. Para inhibir la actividad de XO, se exploraron las afinidades de unión, el modo de unión, las interacciones moleculares y la constante de inhibición para CDK, CKE, CAPE, CA, Vit A y Vit E con cálculos de *docking* molecular. Primero, para validar la metodología, se usó el valor RMSD; para comprobar que el método es válido si el valor de RMSD resulta menor de 3.5 Å. El procedimiento de validación consiste en reacomodar el ligando con el que está cocrystalizada la enzima en el sitio activo, en este caso, el ácido salicílico (SAL). Como resultado, se obtuvo un valor de RMSD de 1.33 Å, lo que permitió corroborar la metodología empleada, con lo que se procedió a realizar el análisis de las demás moléculas.

## ANTIOXIDANTES DE PRODUCTOS NATURALES (EXÓGENOS)



**Figura 40** Representación 2D de las poses e interacciones moleculares (con sus distancias en Å) de CKE, CKD, CAPE, CA, Vit A, Vit E, SAL y alopurinol con los residuos del sitio activo de XO. En gris átomos de C; en rojo, átomos de O; y en morado, átomos de N.

Para el análisis de las moléculas, se añadió al alopurinol, que es una molécula conocida por ser un buen inhibidor de XO [248]. Dentro de los resultados se encontraron interacciones significativas como enlaces de hidrógeno, interacciones  $\pi$ - $\pi$ ,  $\pi$ -alquil, entre otras que se muestran en la **Fig. 40**. Todas las moléculas se acoplaron cerca del sitio de enlace que involucra a los cofactores; sin embargo, CDK, CKE, CAPE, CA, Vit A y Vit E no interactúan con el cofactor Mo, esto puede ser debido a que tienen un mayor tamaño que el alopurinol y SAL. En la **Fig. 40**, se puede ver que SAL y el alopurinol tienen fuertes interacciones moleculares con los residuos de XO; esto se ve reflejado en los valores de energía de unión y eficiencia de ligando de la **Tabla 9**. Un alto valor de energía de unión y de eficiencia de ligando significa que hay una fuerte interacción entre el ligando y el sitio de unión. La eficiencia de ligando se usa para comparar la actividad entre las distintas moléculas empleadas. Por otro lado, la constante de inhibición,  $K_i$ , es un indicador de qué tan potente

## ANTIOXIDANTES DE PRODUCTOS NATURALES (EXÓGENOS)

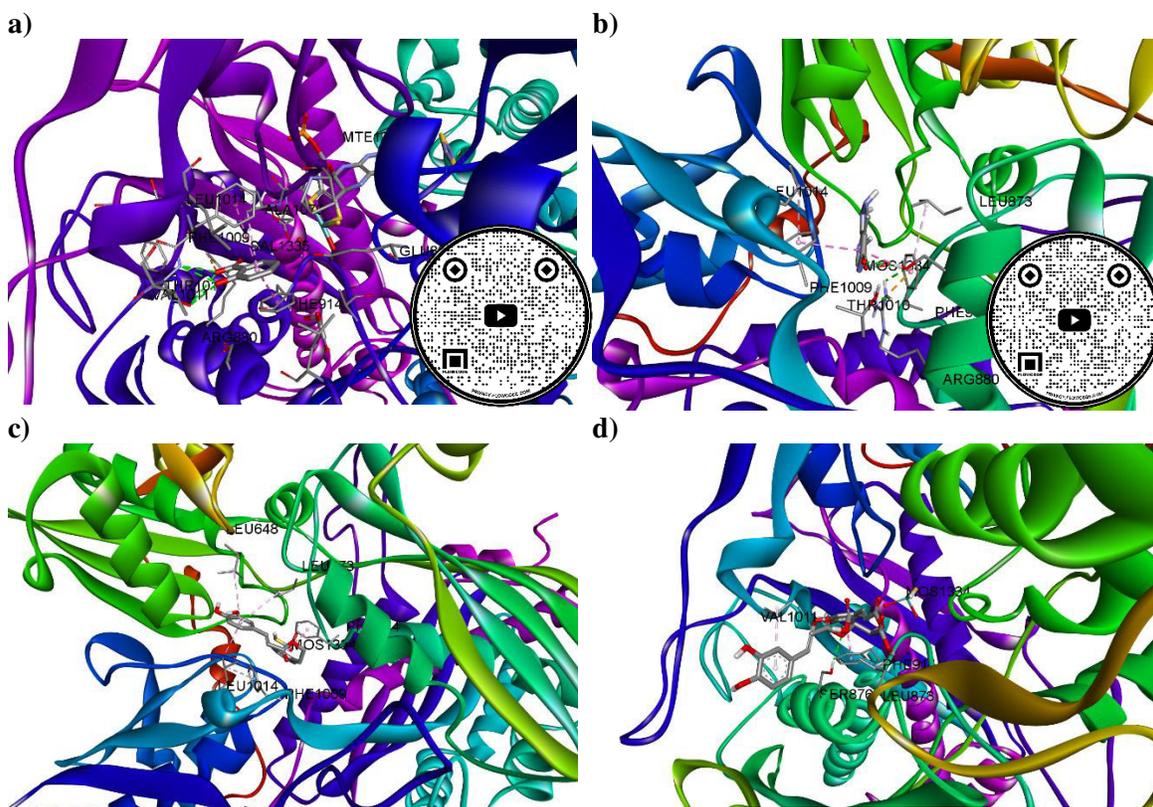
es un inhibidor, esta es la concentración requerida para producir la inhibición máxima media. Teniendo en cuenta esto, se puede hablar sobre la eficiencia de cada molécula para inhibir la actividad de XO.

**Tabla 9** Valores para la energía de unión, eficiencia de ligando y la constante de inhibición para cada molécula.

Molécula	Energía de unión (kcal/mol)	Eficiencia de ligando (kcal/mol)	Constante de inhibición, $K_i$ (uM)
VitA	-8.22	-0.39	941.04
VitE	-3.98	-0.13	1.21
CKE	5.40	-0.20	110.44
CDK	-7.25	-0.27	4.84
CA	-5.12	-0.15	177.92
CAPE	-7.26	-0.35	4.79
SAL	-7.54	-0.75	2.96
Alopurinol	-8.13	-0.81	1.10

De acuerdo con los valores presentados en la **Tabla 9**, SAL y el alopurinol, por sus valores de energía de unión y eficiencia de ligando, interactúan más eficientemente que las moléculas que se están estudiando. Esto podría ser en parte por el tamaño de las moléculas. Mientras que el valor bajo de  $K_i$ , señala que estas son buenas inhibidoras de XO. Así mismo, se puede notar que Vit A, CKE y CA tienen un valor de  $K_i$  más alto que las otras moléculas estudiadas. En consecuencia, se necesitan altas cantidades para inhibir la actividad de XO comparadas con SAL y el alopurinol. Entonces, las moléculas con un valor bajo de  $K_i$  y alto de eficiencia de ligando serán las que mejor podrían inhibir a XO. En conclusión, CDK y CAPE podrían inhibir a XO; sin embargo, no son mejores que SAL y el fármaco por excelencia, alopurinol. En la **Fig. 41** se puede ver la pose y las interacciones de CDK, CAPE, SAL y alopurinol con XO.

## ANTIOXIDANTES DE PRODUCTOS NATURALES (EXÓGENOS)



**Figura 41** Poses de a) SAL, b) alopurinol, c) CAPE y d) CA en el sitio activo de XO. En el código QR se pueden ver las animaciones de las interacciones.

## VI.4 CONCLUSIONES

Las propiedades antirradicales de CDK, CKE, CAPE y CA fueron investigadas en el nivel de teoría seleccionado M06-2X/6-31+G(d). Este nivel de teoría fue seleccionado después de una calibración usando el valor experimental del potencial de ionización vertical de la vitamina A, como referencia, y comparándolo con los resultados de algunos niveles de teoría.

Los resultados indican que CDK, CKE, CAPE y CA pueden ser buenos antirradicales. Estas moléculas tienen buenas propiedades antirradicales, tales como buena biodisponibilidad y baja toxicidad; para ello, se obtuvo el valor del  $pK_a$ , en donde a  $pH$  fisiológico, todas las moléculas se encuentran en su forma neutra. Para evaluar su solubilidad se obtuvieron los valores de  $\text{Log } P$  y  $\Delta G_{sol}^\circ$ , en donde CKE, CDK y CAPE son lipofílicas; esto se corroboró al comprobar la solubilidad de la vitamina A, vitamina E y vitamina C, obteniéndose que las primeras son lipofílicas y la última es hidrofílica, lo que está de acuerdo

## ANTIOXIDANTES DE PRODUCTOS NATURALES (EXÓGENOS)

con resultados experimentales. Para estimar su biodisponibilidad y toxicidad se emplearon las reglas de Lipinski, Ghose, el criterio de Veber, la  $LD_{50}$  y la mutagenicidad de Ames. Teniendo como resultado de CDK, CKE y CAPE pueden ser probadas como fármacos con administración oral y para su uso terapéutico por su baja toxicidad. Para ver su efectividad como antirradicales se evaluaron algunos posibles mecanismos de acción como SET, HAT y la inhibición de XO.

Para estudiar la transferencia electrónica, se emplearon diversos descriptores de la reactividad global de la DFT Conceptual, los cuales señalaron que CDK, CKE, CA y CAPE se comportan como antirreductores y, las vitaminas A y E se comportan como antioxidantes. En el estudio del mecanismo SET, se emplearon técnicas simples que hacen uso de los descriptores de la reactividad de la DFT Conceptual: el mapa DAM y FEDAM. Estas técnicas señalan que CDK y CKE son débiles donadores de electrones y son mejores para aceptarlos; entonces son buenos antirreductores, presentando SET desde el radical. También, CDK y CKE pueden aceptar un electrón del RL  $HOO^{\bullet}$ . Sin embargo, para esto se tiene un alto costo energético.

En cuanto a HAT, este resultó ser el mecanismo de acción más favorecido energéticamente para las moléculas. CA y CAPE resultaron ser los mejores antirradicales en este mecanismo de acción, al tener un mayor número de átomos de hidrógeno activos para poder ser transferidos a los RL.

Con respecto a la inhibición de XO, CDK y CAPE, estas podrían inhibir su actividad, pero no resultaron ser mejores que el ácido salicílico que estaba cocrystalizado con XO y el alopurinol, fármaco ya utilizado para inhibir a XO.

Con ayuda de los descriptores globales de la reactividad se pueden anticipar otros mecanismos de acción, como la transferencia secuencia electrón-protón (SET-PT). Los altos valores de  $I$  indican que las moléculas estudiadas difícilmente presentarán el mecanismo SET-PT, tanto en el medio fisiológico como en el medio lipofílico. Lo mismo ocurre con el mecanismo de transferencia secuencial de átomos de hidrógeno con pérdida de protones (SPLHAT).

## ANTIOXIDANTES DE PRODUCTOS NATURALES (EXÓGENOS)

Finalmente, se propone que CDK, CKE, CAPE y CA pueden tener un rol potencial como protectores ante el estrés oxidativo, por lo que sugerimos ser probados experimentalmente. De estos, CAPE y CA podrían presentar distintos mecanismos de acción que faltan por ser evaluados, así como a sus posibles metabolitos.

---

# CAPÍTULO VII

## ANTIOXIDANTES DERIVADOS DE MELATONINA (ENDÓGENOS)

---

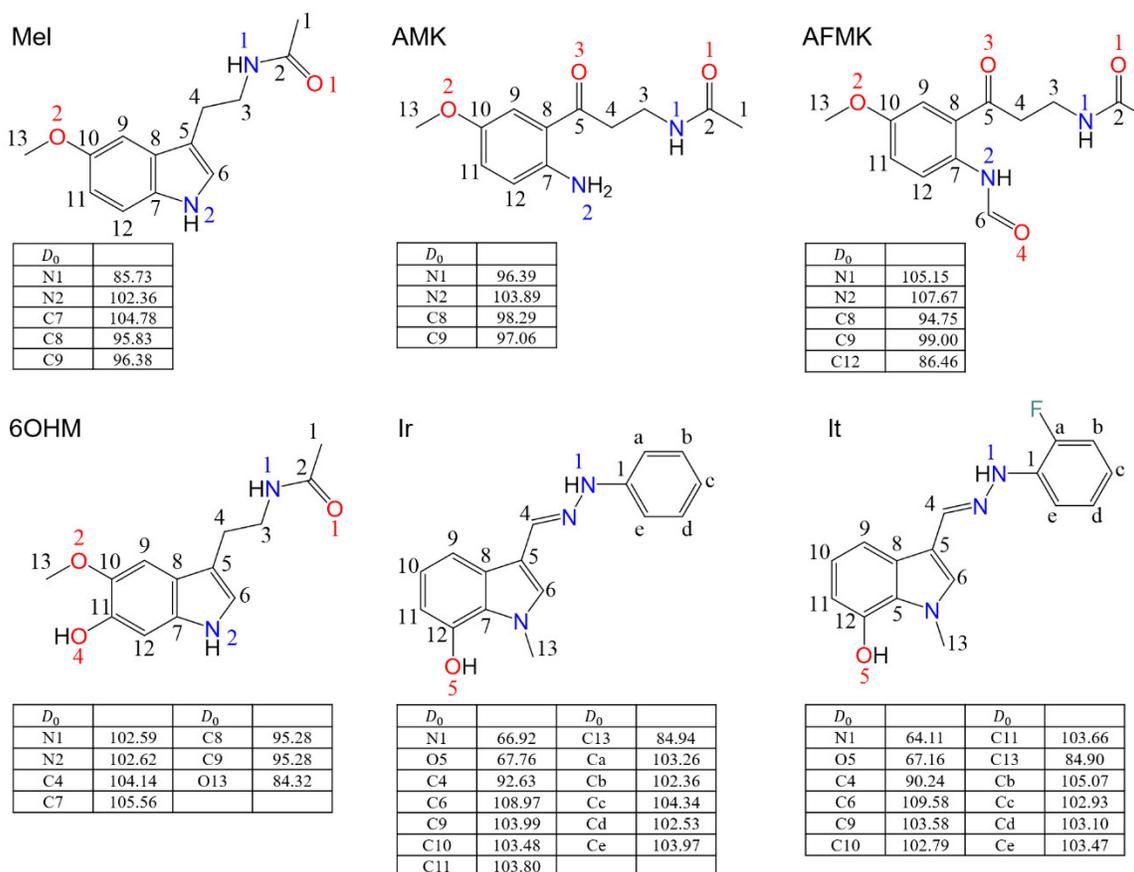
### VII.1 INTRODUCCIÓN

En este capítulo se muestran las propiedades y mecanismos de acción de algunos AR endógenos y de algunos derivados que podrían ser sintetizados con posible función antirradical. Las moléculas estudiadas en este capítulo fueron la melatonina, tres metabolitos y dos derivados de melatonina. El rol de la melatonina y sus metabolitos contra el EO ha sido muy estudiado en la literatura, en donde se han dado a conocer los distintos mecanismos de acción de ellos y como los metabolitos de la melatonina son mejores antioxidantes que la melatonina [249–252]. En este sentido, se han buscado derivados de la melatonina que posean mejores propiedades antirradicales, se puedan regenerar, no sean tóxicos y no tengan comportamiento prooxidante [253, 254].

La melatonina y sus metabolitos han sido estudiados contra el EO evaluando distintos mecanismos de acción, sin embargo, no se tienen antecedentes de estos y su modo de interacción con enzimas productoras de RL. Las especies reactivas de oxígeno o RL son continuamente generadas en el sistema biológico de manera normal, primariamente por enzimas como la xantina oxidasa (XO) [229]. Por lo que la inhibición de este tipo de enzimas podría reducir considerablemente el EO en una célula altamente estresada. Con este objetivo se decidió estudiar a la melatonina (Mel), tres de sus metabolitos N1-acetil-5-metoxiquinuramina (AMK), N1-acetil-N2-formil-5-metoxiquinuramina (AFMK), 6-hidroximelatonina (6OHM) y dos análogos desarrollados y estudiados por el grupo de Galano, Ir e It [253, 254], ver **Fig. 42**. Para todas estas moléculas se estudiaron los descriptores globales de la reactividad de DFT Conceptual [155], el Log *P*, la energía de Gibbs de solvatación, la biodisponibilidad y la toxicidad usando la DFT. En cuanto a los mecanismos de acción se evaluaron SET, HAT y la inhibición de XO, que como

## ANTIOXIDANTES DERIVADOS DE MELATONINA (ENDÓGENOS)

se ha mencionado es una enzima generadora de especies reactivas de oxígeno, radicales libres (RL) [229].



**Figura 42** Estructuras químicas de los antirradicales estudiados en este capítulo. En color azul y rojo están los átomos de hidrógeno usados para los estudios de deshidrogenación. En las tablas se presentan los valores de la energía de disociación de enlace de un átomo de hidrógeno ( $D_0$ ). Todos los valores están en kcal/mol.

## VII.2 METODOLOGÍA

Todos los cálculos electrónicos fueron realizados con el paquete Gaussian09 [181]. Los mínimos locales fueron identificados por la ausencia de frecuencias imaginarias. Se preparó un estudio con diferentes niveles de teoría de la DFT para validar la metodología computacional que se describen en la sección de resultados. Se seleccionaron ocho niveles de teoría para comparar los valores del potencial de ionización ( $I$ ) calculados de la melatonina contra el dato experimental, 7.70 eV [255]. Además, se comparó el tiempo computacional entre la vitamina E, la vitamina A y la melatonina en cada nivel de teoría. El modelo de

## ANTIOXIDANTES DERIVADOS DE MELATONINA (ENDÓGENOS)

solvatación continuo basado en la densidad (SMD) [175] fue usado para incluir los efectos del solvente como son agua ( $\epsilon = 78.36$ ) y pentiletanoato ( $\epsilon = 4.7297$ ) para simular los efectos del medio fisiológico y del ambiente lipídico.

### VII.2.1 Búsqueda Conformacional

Se realizó una búsqueda conformacional en Spartan08 [231] con ayuda de la utilidad *Conformer distribution* con el campo de fuerza MMFF [256]. La búsqueda se restringió a 10,000 conformeros para obtener 10 conformeros finales de menor energía sin restricciones de simetría. Los 10 conformeros fueron reoptimizados en el nivel de teoría B3LYP/6-31+G\*. Finalmente, los conformeros de menor energía para cada molécula fueron reoptimizados en el nivel de teoría final M06-2X/6-31+G\*, seleccionado después de la calibración.

### VII.2.2 Variación en los Descriptores Globales de la Reactividad

Las propiedades electrónicas fueron obtenidas por los descriptores globales y locales de la reactividad de la DFT Conceptual, discutidos en el capítulo II: potencial de ionización vertical ( $I$ ), afinidad electrónica vertical ( $A$ ), electronegatividad ( $\chi$ ), dureza química ( $\eta$ ), blandura absoluta ( $S$ ), electrofilicidad ( $\omega$ ), potencia electrodonadora ( $\omega^-$ ) y potencia electroaceptora ( $\omega^+$ ). Estos se consiguieron mediante cálculos simples sin relajación de la geometría de los conformeros de menor energía con el nivel de teoría M06-2X/6-31+G\*.

### VII.2.3 Transferencia electrónica simple (SET)

Para investigar el mecanismo SET, ec. 7.1, se utilizaron dos estrategias gráficas. La primera estrategia gráfica es el mapa total donador-aceptor de electrones (FEDAM) que evalúa el proceso de transferencia electrónica entre AR y RL. El FEDAM grafica el potencial de ionización ( $I$ ) contra la afinidad electrónica ( $A$ ). Como consecuencia, FEDAM provee información acerca de la habilidad de una molécula para aceptar o donar un electrón a ciertos RL [236]. En este trabajo se usaron los RL:  $OH^\bullet$ ,  $NO_2^\bullet$ ,  $HOO^\bullet$  y  $CH_3O^\bullet$ . Estos RL fueron seleccionados para representar a RL que contienen oxígeno, carbono y nitrógeno. La segunda estrategia es el mapa donador-aceptor (DAM), este clasifica a cualquier molécula en términos de su capacidad para donar y aceptar. DAM es una herramienta útil para comparar diferentes moléculas de AR. En consecuencia, las moléculas pueden ser clasificadas de acuerdo con su capacidad de donación y aceptación en comparación con los átomos de F y Na usados como

## ANTIOXIDANTES DERIVADOS DE MELATONINA (ENDÓGENOS)

referencia o control. Entonces, es necesario graficar el índice de aceptación electrónica ( $Rd$ ) contra el índice de donación electrónica ( $Ra$ ) obtenidos por las ecuaciones 7.2 y 7.3.



$$Ra = \frac{\omega_L^{+}}{\omega_F^{+}} \quad (7.2)$$

$$Rd = \frac{\omega_L^{-}}{\omega_{Na}^{-}} \quad (7.3)$$

### VII.2.4 Transferencia de átomos de hidrógeno (HAT)

El otro mecanismo evaluado es HAT, representado por la siguiente reacción,



Para HAT, también se estudió la energía de disociación de enlace de un átomo de hidrógeno ( $D_0$ ).



Se calcularon las energías de Gibbs adiabáticas para todas las reacciones. Se evaluó la acción antirradical de las moléculas en estudio con los siguientes RL:  $OH^{\bullet}$ ,  $NO_2^{\bullet}$ ,  $HOO^{\bullet}$  y  $CH_3O^{\bullet}$ .

### VI.2.5 Inhibición de la Xantina Oxidasa (XO)

Para los estudios *Docking* se usó la estructura de rayos X de *Bos Taurus* (90% homóloga con la de humano XO) con una resolución de 2.5 Å que contiene a su competitivo inhibidor, el ácido salicílico (SAL), con el código PDB: 1FIQ [237]. XO y sus ligandos fueron evaluados en el programa AutoDock Tools versión 1.5.6 y AutoDock 4.2.6, para los cálculos de *docking* [238]. Así mismo, se calcularon las cargas de Kollman y se removieron las cadenas A y B de la proteína y pequeñas moléculas excepto, el cofactor de molibdopterina (MTE) y Mo (MOS) presentes en la subunidad C. Las cuadrículas para la evaluación tienen un espaciamiento de 0.375 Å y una caja de 40 x 40 x 60 puntos entrada en el punto 26.569 x 10.228 x 113.088 con el algoritmo genético lamarckiano. Para esto se realiza un *docking* flexible, en donde los residuos de la zona activa se dejan flexibles en el cálculo, estos son los residuos catalíticos

## ANTIOXIDANTES DERIVADOS DE MELATONINA (ENDÓGENOS)

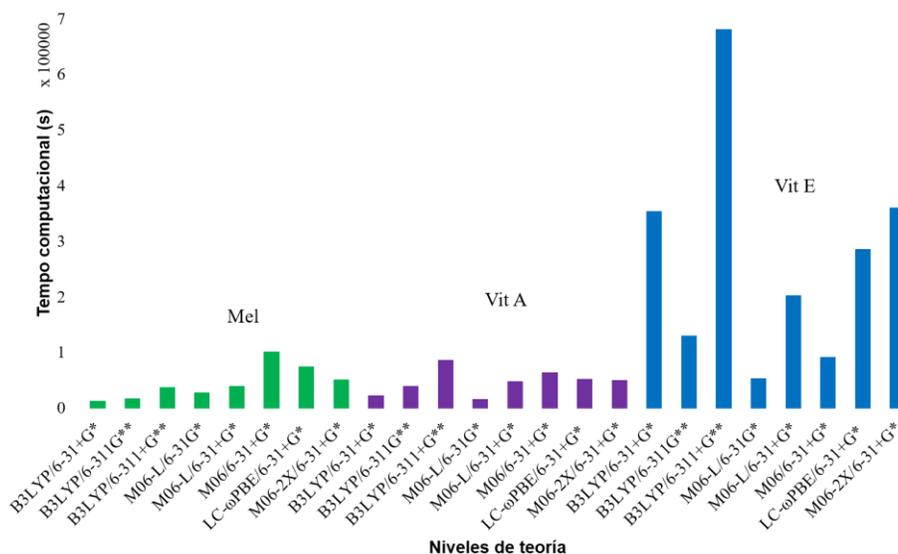
LEU873, LEU648, GLU802, SER876, ARG880, PHE914, PHE1009, THR1010, VAL1011, LEU1014, ALA1079, GLU1261 y, los residuos importantes en la hidroxilación del sustrato xantina [239] GLU802, THR1010, ARG880, PHE914, PHE1009, LEU873, VAL1011 y LEU648. Todo el material gráfico fue preparado usando el programa Discovery Studio 2017 R2 Client (ver. 17.2.0, Accelrys Software Inc., San Diego, CA, USA).

### VII.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

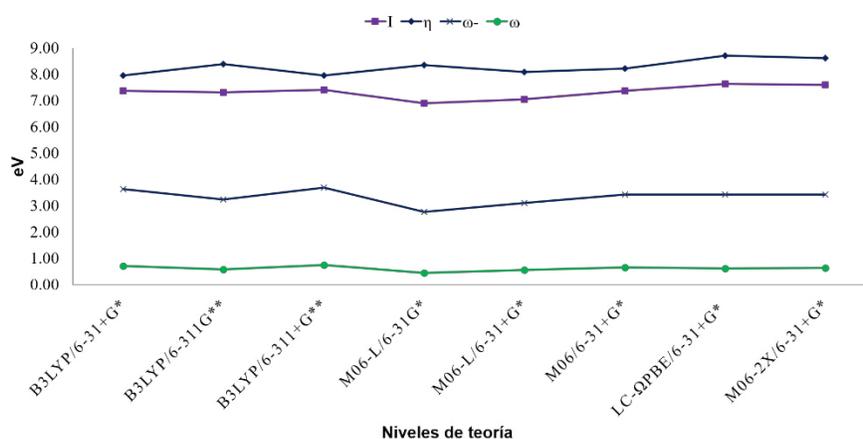
Para seleccionar el nivel de teoría más adecuado, se probaron los siguientes ocho niveles de teoría B3LYP/6-31+G\*, B3LYP/6-311G\*\*, B3LYP/6-311+G\*\*, M06-L/6-31G\*, M06-L/6-31+G\*, M06/6-31+G\*, LC- $\omega$ PBE/6-31+G\* y M06-2X/6-31+G\*. Estos son una muestra de los más empleados niveles de teoría en otros trabajos. Se comparó el valor de % de error absoluto entre el  $I$  calculado y el valor de  $I$  experimental, **Tabla 10**. De acuerdo con el tiempo computacional, con los funcionales B3LYP, M06-L y M06-2X y conjuntos base pequeños, es menos costoso obtener los cálculos de optimizaciones y frecuencias. En la comparación de los descriptores globales:  $I$ ,  $\eta$ ,  $\omega$  y  $\omega^+$  en los distintos niveles de teoría se encontró una pequeña variación, de  $\sim 1$  eV, **Fig 43**.

## ANTIOXIDANTES DERIVADOS DE MELATONINA (ENDÓGENOS)

a)



b)



**Figura 43** a) Tiempo computacional en segundos de los cálculos de optimización y frecuencias para Mel (en verde) Vit A (en púrpura) y Vit E (color azul) en diferentes niveles de teoría y b) Valores de los descriptores globales para Mel en distintos niveles de teoría en eV.

En la **Tabla 10**, M06-2X/6-31+G\* tiene un pequeño valor de error absoluto. En consecuencia, M06-2X/6-31+G\* fue seleccionado por su bajo costo computacional y similitud con los datos experimentales. Posterior a la sección del nivel de teoría es necesario conocer cuál va a ser la especie que prevalecerá, con el valor del  $pK_a$ .

## ANTIOXIDANTES DERIVADOS DE MELATONINA (ENDÓGENOS)

**Tabla 10** Potencial de ionización vertical ( $I$ ) calculado en eV para Mel con diferentes niveles de teoría y % de error absoluto entre el  $I$  calculado y el valor de  $I$  experimental.

Nivel de teoría	$I$	% Error
<i>Melatonina</i>		
B3LYP/6-31+G*	7.37	4.3
B3LYP/6-311G**	7.32	5.0
B3LYP/6-311+G*	7.41	3.7
M06-L/6-31G*	6.90	10.3
M06-L/6-31+G*	7.04	8.5
M06/6-31+G*	7.37	4.3
LC- $\omega$ PBE/6-31+G*	7.63	0.9
M06-2X/6-31+G*	7.60	1.3
Exp.	7.70	

Los valores de  $pK_a$  para Mel, derivados y análogos se encuentran en la **Tabla 11**, junto a su correspondiente fracción molar a pH fisiológico (7.4). Los valores indican que las especies que predominan para Mel, metabolitos y análogos son neutras. Para It e Ir se obtuvieron los valores de  $pK_a$  usando el método directo del esquema de intercambio de protón, ciclo A [232]. En consecuencia, todas estas moléculas fueron estudiadas en su forma neutra.

**Tabla 11** Primeros valores de  $pK_a$  y fracciones molares de las especies neutras ( $mf_{neutral}$ ) y aniónicas ( $mf_{anion}$ ) a pH=7.4 para Mel, derivados y análogos a estado estándar 1 M.

Molécula	$pK_a$	$mf_{neutral}$	$mf_{anion}$	Ref.
Mel	12.3	~1.00	0.00	[257]
AMK	16.8	~1.00	0.00	[61]
AFMK	8.7	0.95	0.05	[61]
6OHM	9.4	0.99	0.01	[62]
It	19.2	~1.00	0.00	Este trabajo
Ir	22.5	~1.00	0.00	Este trabajo

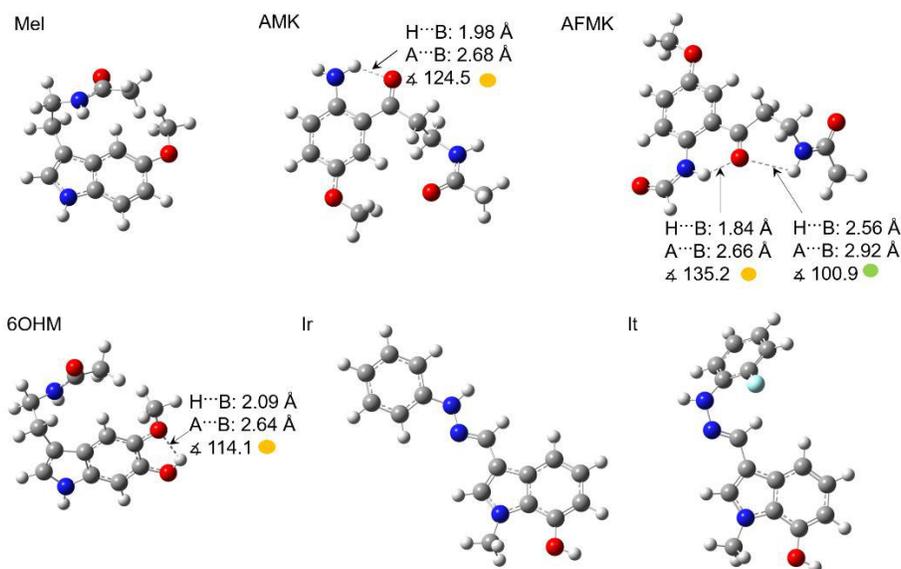
### VII.3.1 Análisis Conformacional

Durante el análisis conformacional, se hallaron a los conformeros más estables de las moléculas. Algunas de ellas tienen enlaces de hidrógeno<sup>IX</sup> que hacen a los conformeros termodinámicamente más estables; esto causa que el valor de  $D_0$  y  $\Delta G$  para la transferencia de átomos de hidrógeno sean mayores y en consecuencia se tenga una disminución en su actividad antirradical, **Fig. 44**. Mel, no tiene enlaces de hidrógeno en agua ni en

<sup>IX</sup> La descripción de los enlaces de hidrógeno se obtuvo a partir de datos geométricos.

## ANTIOXIDANTES DERIVADOS DE MELATONINA (ENDÓGENOS)

pentiletanoato, pero es notable que la cadena alquilo tiene interacciones con el anillo de benceno. AMK tiene un enlace de hidrógeno fuerte entre el grupo amino y el grupo cetona en ambos solventes. AFMK tiene un enlace de hidrógeno fuerte y uno débil provocando que los hidrógenos de los grupos amino necesiten más energía para ser removidos. De manera similar, 6OHM tiene un enlace de hidrógeno entre el grupo hidroxilo y el éter.



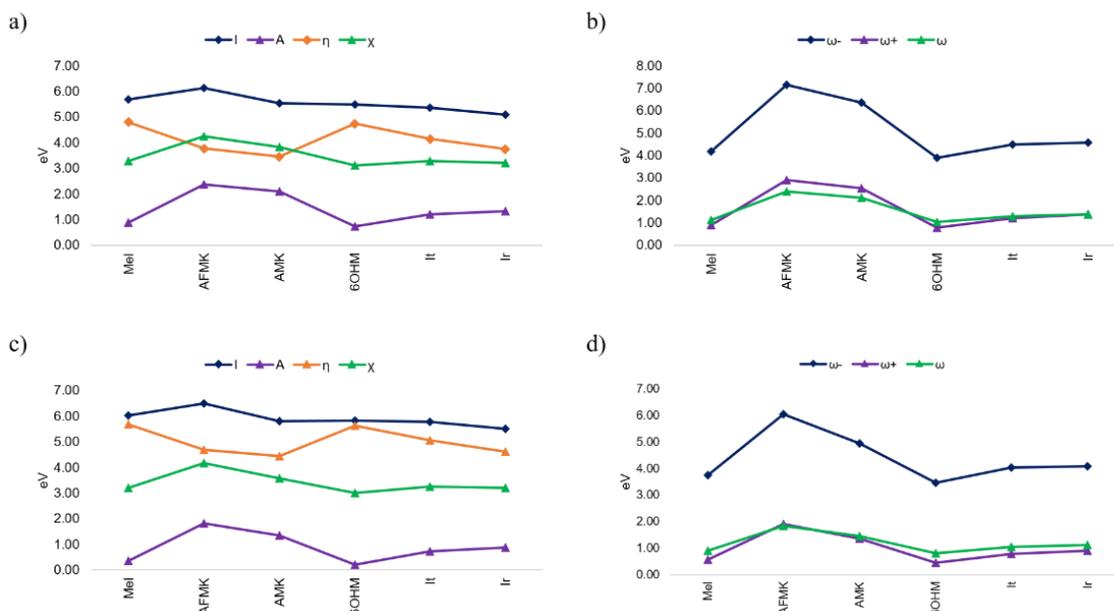
**Figura 44** Geometrías optimizadas de Mel, derivados y sus análogos con enlaces de hidrógeno. En donde ● indica un enlace débil de hidrógeno; mientras ● indica un enlace moderado de hidrógeno. Distancias en Å. En gris, átomos de C; en blanco, en átomos de H; en azul, átomos de N; en rojo, átomos de O; y en cian, átomos de F.

### VII.3.2 Variación en los Descriptores Globales de la Reactividad

Para estudiar la reactividad de Mel, sus metabolitos y análogos se calcularon los descriptores de la reactividad química de la DFT Conceptual, **Fig. 45**. Los análogos Ir e It muestran una buena actividad antirradical. Se encontró que Mel, sus metabolitos y análogos son más reactivos en agua que en el pentiletanoato. En la **Fig. 45**, se ve que las moléculas que tienen un valor más bajo de  $I$  están en el siguiente orden  $Ir < It < 6OHM < AFMK < Mel < AMK$ ; en consecuencia, se ve que Ir e It son mejores para donar un electrón, posiblemente a los RL. Lo anterior coincide con los resultados en el grupo de Galano [258]. Comparando el valor de  $A$ , se tiene el siguiente orden  $6OHM < Mel < It < Ir < AFMK < AMK$ ; en donde el valor alto de  $A$  significa alta probabilidad de ganar un electrón proveniente de los RL, donde a su vez se destacan AMK y AFMK. Por otro lado, las moléculas con un bajo valor de  $\eta$  son

## ANTIOXIDANTES DERIVADOS DE MELATONINA (ENDÓGENOS)

AFMK<Ir<AMK<It<6OHM< Mel; se aprecia ve que los metabolitos y análogos de Mel son más reactivos, lo que puede favorecer su interacción con RL. Por otro lado, un valor bajo de electronegatividad indica que la molécula tenderá a dar un electrón, siendo las que tiene el valor más bajo, 6OHM e Ir.



**Figura 45** Valores de los descriptores globales de la reactividad química para Mel, metabolitos y análogos con el nivel de teoría M06-2X/6-31+G\*. Donde a) y b) muestran los valores en agua y, c) y d) muestran los valores en pentiletanoato.

De igual manera, en **Figs 45b** y **45d** se muestran a las moléculas que tienen un valor bajo de  $\omega$  en el siguiente orden: 6OHM<Mel<It<Ir<AFMK<AMK. Como se mencionó en el capítulo anterior en el trabajo de Domingo y colaboradores. [243] las moléculas son fuertes electrófilos si tienen un valor pequeño de  $\omega$  ( $<0.8$  eV) por lo que se espera que actúen como buenos atrapadores de RL vía transferencia electrónica. Del mismo modo, las moléculas con el mayor valor de  $\omega^+$  tienen el siguiente orden AMK>AFMK>Ir>It>Mel>6OHM. Entonces AMK y AFMK son los que más fácilmente podrán aceptar carga electrónica. Igualmente, las moléculas con un bajo valor de  $\omega^-$  son 6OHM<Mel<It<Ir<AFMK<AMK. En consecuencia, 6OHM y Mel tienen una alta probabilidad de donar carga electrónica a los RL. Esta tendencia fue observada tanto en agua como en pentiletanoato.

VII.3.3 Energía de Solvatación y Log *P*

Al igual que con los antirradicales exógenos, se calculó el valor de Log *P* y  $\Delta G_{solv}^{\circ}$  para conocer la solubilidad de las moléculas, **Tabla 12**. Encontrando que los metabolitos se pueden clasificar como anfifílicos al igual que la melatonina, mientras que Ir e It se pueden clasificar como lipofílicos, aunque el valor de  $\Delta G_{solv}^{\circ}$ , indica mayor solubilidad en agua, esto puede deberse a la diferencia de solventes empleados para representar la capa lipídica. La hidrofobicidad de los antirradicales, ayuda al transporte pasivo a través de las membranas celulares, siendo entonces que todas estas moléculas atravesarán con mayor facilidad la membrana celular, siendo posible que al no ser tan lipofílicos no tiendan a bioacumularse. Los compuestos se pueden clasificar como altamente lipofílicos cuando tienen un Log *P* > 6, como la vitamina E y la vitamina A; como muy hidrofílicos cuando tienen un Log *P* < -3, como la vitamina C; y, los anfifílicos como la melatonina con un Log *P* entre -1 y 2 [259].

**Tabla 12** Valores de Log *P* y energía libre de solvatación ( $\Delta G_{solv}^{\circ}$ ) para cada molécula en el nivel de teoría M06-2X/6-31+G\*/SMD.

Molécula	Log <i>P</i> <sup>a</sup>	Ref.	$\Delta G_{solv,w}$ (kcal/mol)	$\Delta G_{solv,p}$ (kcal/mol)
Mel	1.45	0.96±0.44 <sup>a</sup>	-15.65	-14.65
AMK	0.34	0.82±0.52 <sup>a</sup>	-16.43	-13.87
AFMK	-0.03	0.65±0.49 <sup>a</sup>	-16.36	-14.96
6OHM	0.73	0.02±0.83 <sup>a</sup>	-16.98	-14.75
It	4.88	4.88 <sup>b</sup>	-13.68	-7.50
Ir	4.71	4.71 <sup>b</sup>	-14.35	-7.30

<sup>a</sup> Calculado usando la herramienta online Molinspiration [www.molinspiration.com](http://www.molinspiration.com) [258]

<sup>b</sup> ADC/Chemsketch log P plugin (Advanced Chemistry Development, Inc., Toronto, Canada) 2012 <http://www.acdlabs.com> [260].

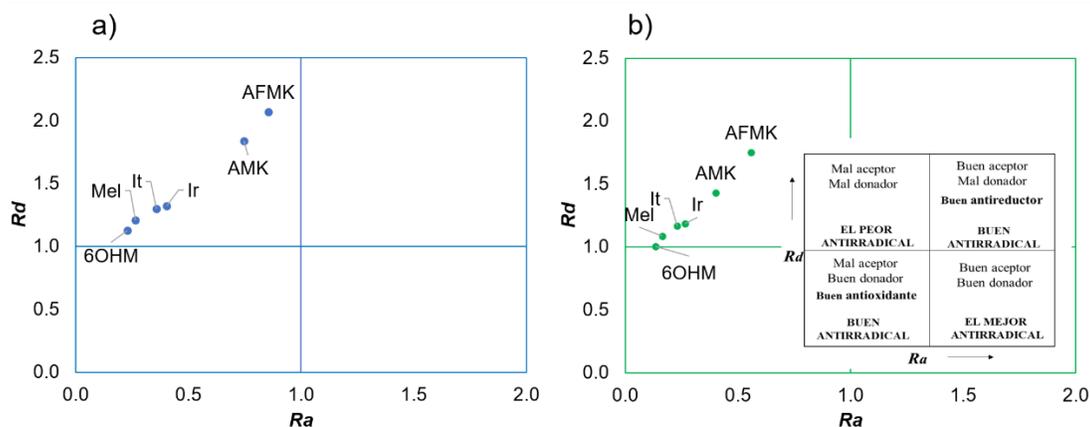
Aunado a esto, se sabe que la melatonina y sus metabolitos tienen buena biodisponibilidad y también baja toxicidad [261]. Mientras que Ir e It, concuerdan con el valor de LD<sub>50</sub>, 1749 y 1795 mg/kg, respectivamente, y el valor de mutagenicidad de Ames (M), 0.41(-) y 0.43 (-) [258], se estima que no serán tóxicos; además, de acuerdo con el trabajo de Galano, se estima que estos sean fáciles de sintetizar. Considerando que se tiene una buena transferencia electrónica, buena biodisponibilidad y baja toxicidad, se han evaluado distintos mecanismos de acción.

### VII.3.4 Mecanismos de Acción

En esta sección se evaluaron algunos mecanismos de acción primaria de Mel, sus metabolitos y sus análogos. Los mecanismos de acción de Mel y sus metabolitos ya ha sido estudiados ampliamente en la literatura por lo que se usaron como referencia para comparar la actividad de los recién propuestos Ir e It. Para esto se debe tomar en cuenta que 6OHM actúa frente a los RL como buen antirradical con mecanismos de acción primarios, mientras que AMK, AFMK y Mel presentan mecanismos de acción secundarios como es la quelación de metales [59, 62].

### VII.3.5 Transferencia Electrónica Simple (SET)

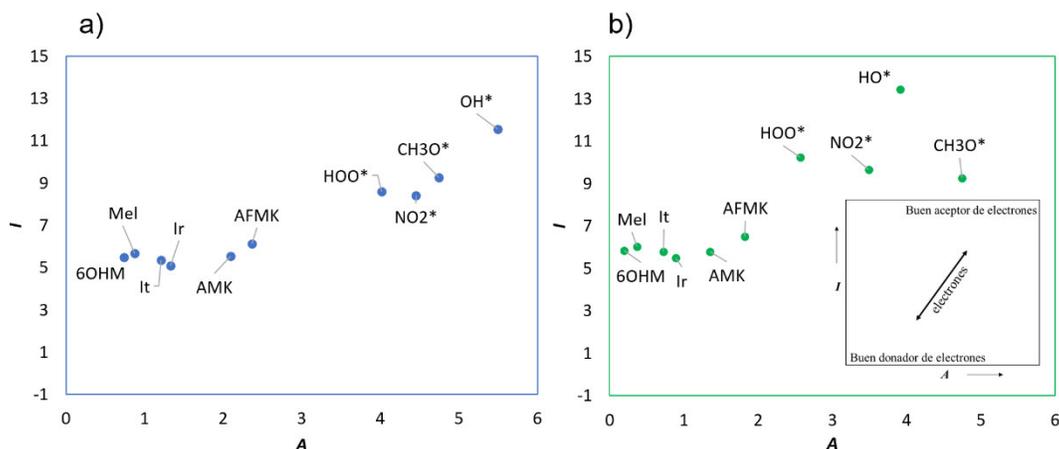
Para evaluar el mecanismo SET, se usaron dos estrategias simples: el mapa DAM y FEDAM. En el mapa DAM, **Fig. 46**, se muestra que todas las moléculas son malas donadoras y aceptoras de carga electrónica, esto concuerda con los valores de  $I$  y  $A$ , en donde se requieren  $\sim 5$  eV para donar un electrón; este comportamiento se presenta en ambos solventes.



**Figura 46** Mapas DAM de las moléculas estudiadas para: a) moléculas en fase agua y b) moléculas en pentilacetato, con el nivel de teoría M06-2X/6-31+G\*/SMD.

Por otro lado, en la **Fig. 47** se muestran los resultados del FEDAM. Este sirve como evaluación rápida para evaluar el proceso de transferencia electrónica entre el AR y un determinado RL. De acuerdo con lo que se muestra, AMK y AFMK podrían aceptar un electrón de  $HOO^{\bullet}$ , principalmente en agua. Como se puede observar, el mecanismo de acción no es favorable para todas las moléculas evaluadas y, en consecuencia, tampoco lo será el mecanismo SPLET.

## ANTIOXIDANTES DERIVADOS DE MELATONINA (ENDÓGENOS)



**Figura 47** Mapas FEDAM de las moléculas estudiadas para: a) moléculas en fase agua y b) moléculas en pentiletanoato, con el nivel de teoría M06-2X/6-31+G\*/SMD.

### VII.3.6 Transferencia de Átomos de Hidrógeno (HAT)

Se evaluó el mecanismo de transferencia de átomos de hidrógeno para todas las moléculas, en donde todas, pueden neutralizar mediante este mecanismo a  $HO^{\bullet}$  y  $CH_3O^{\bullet}$ . Los sitios activos para Mel y los metabolitos seleccionados son lo que se reportan en trabajos previos, con el fin de no repetir resultados, se tomaron en cuenta únicamente los átomos de hidrógeno activos ya reportados [59–61], en cambio para Ir e It, por ser la primera vez que se calculan, se tomaron en cuenta todos los átomos de hidrógeno disponibles.

En comparación con los trabajos previos sobre Mel y sus metabolitos [59–61], que evaluaron a los radicales  $^{\bullet}OH$  y  $HOO^{\bullet}$ , en este trabajo se evaluaron a  $CH_3O^{\bullet}$  y  $NO_2^{\bullet}$ , no evaluados anteriormente. Los resultados indican que estas moléculas pueden neutralizar a RL como  $CH_3O^{\bullet}$  y  $NO_2^{\bullet}$ . Para encontrar al mejor AR en este mecanismo, se debe considerar al número de átomos de hidrógeno reactivos en la molécula y los valores de  $\Delta G$ . Valores negativos de  $\Delta G$  indican que la reacción es exergónica, por lo tanto, energéticamente posible; los átomos de hidrógeno disociados que producen reacciones exergónicas son considerados como hidrógenos activos. En consecuencia, aquellas moléculas con varios átomos de hidrógeno activos son más reactivas; por lo tanto, pueden ser mejores antirradicales, al menos por este mecanismo de acción.

El número de átomos estudiados y los más reactivos se encuentran en la **Tabla 13** (en el Apéndice C se encuentran las tablas con todos los valores). En todos los casos, el átomo

## ANTIOXIDANTES DERIVADOS DE MELATONINA (ENDÓGENOS)

de hidrógeno con mayor facilidad para ser removido es el hidrógeno ácido que se muestra en la **Fig. 41** con el menor valor de  $D_0$ , ver tablas del Apéndice C.

**Tabla 13** Átomos estudiados para el mecanismo de transferencia de átomos de hidrógeno en cada molécula. Esta tabla muestra el número de átomos activos con cada RL, en paréntesis se muestra el orden de la reacción más exérgica a la menos exérgica.

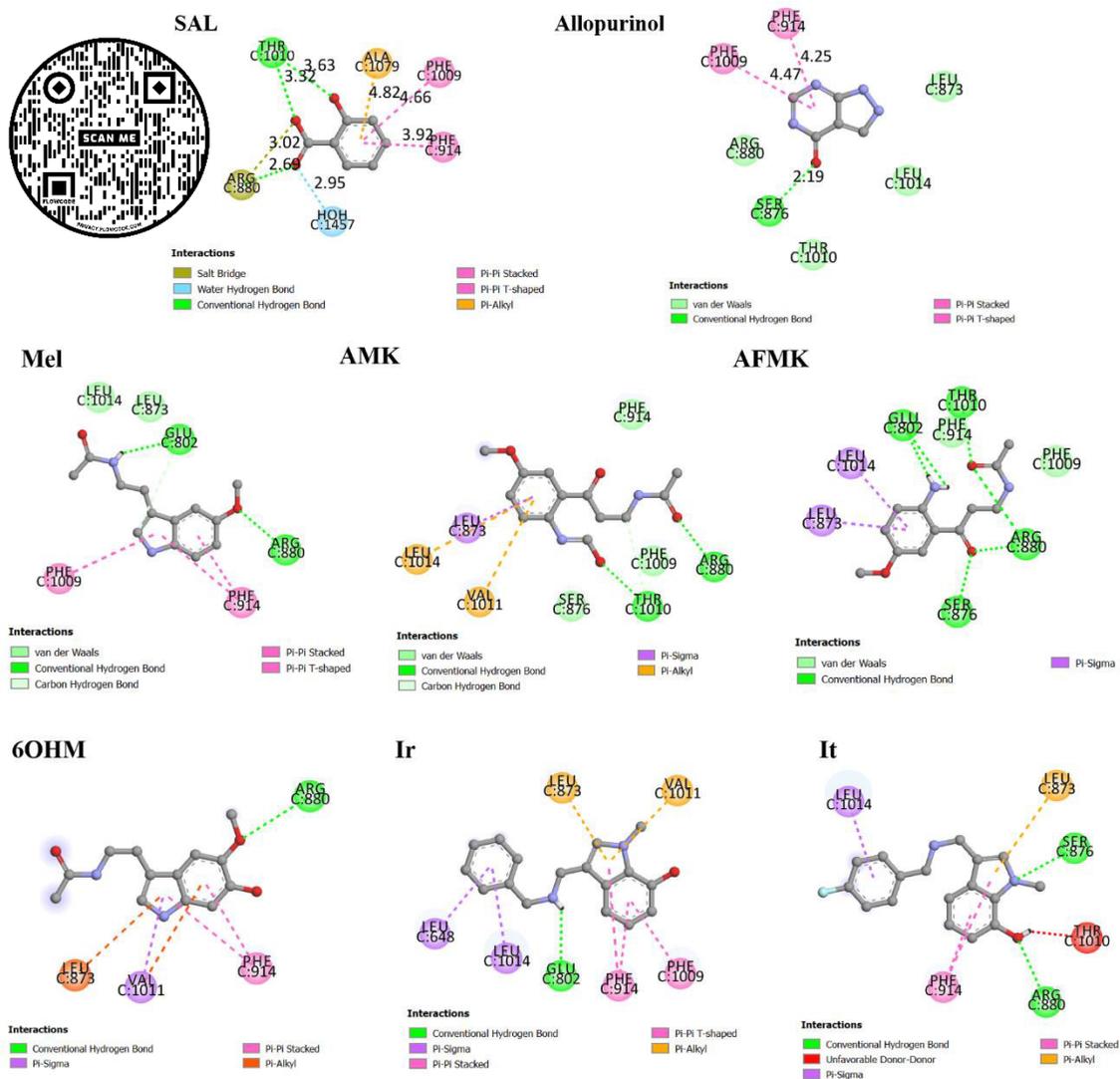
Molécula	# átomos	Agua				Pentiletanoato			
		$HO^\bullet$	$CH_3O^\bullet$	$HOO^\bullet$	$NO_2^\bullet$	$HO^\bullet$	$CH_3O^\bullet$	$HOO^\bullet$ , $NO_2^\bullet$	$NO_2^\bullet$
Mel	5	5 (1°)	3 (2°)	--	--	5 (1°)	3 (2°)	--	--
AMK	4	4 (1°)	3 (2°)	--	--	4 (1°)	3 (2°)	--	--
AFMK	5	5 (1°)	4 (2°)	--	--	5 (1°)	4 (2°)	--	--
6OHM	7	7 (1°)	4 (2°)	1 (3°)	1 (4°)	7 (1°)	4 (2°)	1 (3°)	1 (4°)
It	12	12 (1°)	3 (2°)	2 (3°)	2 (4°)	7 (1°)	2 (2°)	1 (3°)	1 (4°)
Ir	13	10 (1°)	3 (2°)	2 (3°)	2 (4°)	13 (1°)	4 (2°)	2 (3°)	2 (4°)

Como se mencionó en el capítulo anterior, los enlaces de hidrógeno resultan ser importantes para la transferencia de átomos de hidrógeno, ya que pueden incrementar el costo energético para removerlos [246]. Un enlace de hidrógeno fuerte es termodinámicamente más favorable; esto causa un valor alto de  $D_0$  y  $\Delta G$ ; en consecuencia, se tiene un potencial antirradical bajo. En este caso, los metabolitos son los que presentan enlaces de hidrógeno entre los hidrógenos ácidos, incrementando su costo energético para poder ser transferidos. Como se podrá ver en las tablas del apéndice C, It e Ir presentan las reacciones más exérgicas que Mel y sus metabolitos, por lo que It e Ir son buenos candidatos como antirradicales.

### VI.3.7 Inhibición de la Xantina Oxidasa (XO)

Para frenar la producción de especies reactivas de oxígeno o RL, se trató de inhibir a XO, que es una enzima que genera  $O_2^{\bullet-}$  y  $H_2O_2$  durante su mecanismo de reacción [31]. Para inhibir la actividad de XO, se exploraron las afinidades de unión, el modo de unión, las interacciones moleculares y la constante de inhibición para Mel, sus metabolitos y análogos con *docking* molecular. Para el análisis de las moléculas, se añadió al alopurinol, que es una molécula conocida por ser un buen inhibidor de XO [248]. Dentro de los resultados se encontraron interacciones significativas como enlaces de hidrógeno, interacciones  $\pi$ - $\pi$ ,  $\pi$ -alquil, de van der Waals, entre otras que se muestran en la **Fig. 48**.

## ANTIOXIDANTES DERIVADOS DE MELATONINA (ENDÓGENOS)



**Figura 48** Representación 2D de las poses e interacciones moleculares de Mel, metabolitos, análogos, SAL y alopurinol con los residuos del sitio activo de XO. En gris átomos de C, en rojo átomos de O; en morado, átomos de N; y en cian, átomos de F. Usar código QR para una ampliación de la imagen.

En la **Fig. 48**, se puede ver que SAL y el alopurinol tienen fuertes interacciones moleculares con los residuos de XO; esto se ve reflejado en los valores de energía de unión y eficiencia de ligando de la **Tabla 14**. Un alto valor de energía de unión y de eficiencia de ligando significa que hay una fuerte interacción entre el ligando y el sitio de unión. La eficiencia de ligando se usa para comparar la actividad entre las distintas moléculas empleadas. Por otro lado, la constante de inhibición,  $K_i$ , es un indicador de qué tan potente es un inhibidor, esta es la concentración requerida para producir la inhibición máxima media.

## ANTIOXIDANTES DERIVADOS DE MELATONINA (ENDÓGENOS)

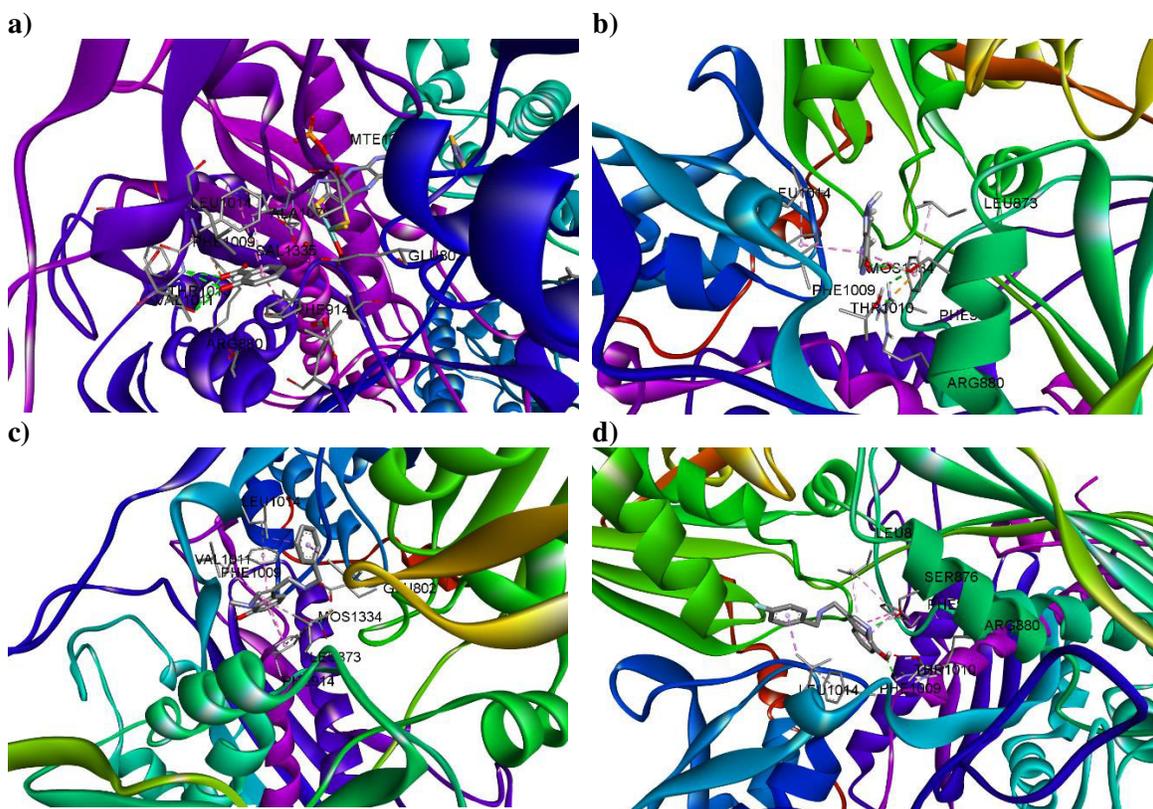
Teniendo en cuenta esto, se puede hablar sobre la eficiencia de cada molécula para inhibir la actividad de XO.

**Tabla 14** Valores para la energía de unión, eficiencia de ligando y la constante de inhibición para cada molécula.

Molécula	Energía de unión (kcal/mol)	Eficiencia de ligando (kcal/mol)	Constante de inhibición, $K_i$ (uM)
Mel	-8.67	-0.51	440.64
AMK	-6.84	-0.36	9.68
AFMK	-8.66	-0.51	440.64
6OHM	-8.48	-0.47	606.77
It	-10.52	-0.5	19.54
Ir	-10.77	-0.54	12.83
SAL	-7.54	-0.75	2.96
Alupurinol	-8.13	-0.81	1.1

De acuerdo con los valores que se muestran en la **Tabla 14**, SAL y alopurinol son mejores inhibidores de XO que Mel y sus metabolitos. Por otro lado, It e Ir, podrían ser buenos inhibidores de XO en comparación con Mel y sus metabolitos ya que presentan mejor valor de energía en la eficiencia de ligando, así como pequeños valores de  $K_i$ . Recordando que, las moléculas con un valor bajo de  $K_i$  y alta de eficiencia de ligando serán las que mejor podrían inhibir a XO. En conclusión, It e Ir podrían inhibir a XO; sin embargo, ellos no son mejores que SAL y el fármaco por excelencia, alopurinol. En la **Fig. 49** se puede ver la pose de It, Ir, SAL y alopurinol con XO y la interacción con los residuos cercanos.

## ANTIOXIDANTES DERIVADOS DE MELATONINA (ENDÓGENOS)



**Figura 49** Poses de a) SAL, b) alopurinol, c) Ir y d) It en el sitio activo de XO.

## VI.4 CONCLUSIONES

Se evaluaron propiedades antirradicales de Mel, metabolitos y análogos propuestos en trabajos del grupo de Galano [253, 254], con el nivel de teoría M06-2X/6-31+G(d). Este nivel de teoría fue seleccionado después de una calibración de varios niveles de teoría y usando el valor experimental del potencial de ionización vertical de Mel, como referencia. Con el objeto de analizar su efectividad como antirradicales, se evaluaron algunos mecanismos de acción como SET, HAT y la inhibición de XO.

Se evaluó la transferencia electrónica de Mel, metabolitos y análogos con los descriptores químicos de la reactividad de la DFT Conceptual, en donde 6OHM, Mel, It e Ir resultan ser los mejores para poder donar carga electrónica hacia los RL. Posteriormente, se evaluó el mecanismo de acción SET usando herramientas simples para permitir tener un panorama sobre este mecanismo en cada molécula, empleando los descriptores químicos de la reactividad. En las dos herramientas DAM y FEDAM, las moléculas mostraron resistencia

## ANTIOXIDANTES DERIVADOS DE MELATONINA (ENDÓGENOS)

a transferir o aceptar carga electrónica. Sin embargo, al evaluar el mecanismo HAT, las moléculas muestran buenos resultados para inhibir a los RL:  $\cdot OH$ ,  $NO_2\cdot$ ,  $HOO\cdot$  y  $CH_3O\cdot$ . Mientras que en este trabajo se propone que  $CH_3O\cdot$  y  $NO_2\cdot$  pueden ser neutralizados por Mel, sus metabolitos y análogos, destacando principalmente las moléculas Ir e It. Por último, se encontró que It e Ir podrían ser buenos inhibidores de XO al tener un valor cercano de eficiencia de ligando al de los inhibidores, alopurinol y SAL, así como un valor bajo de la  $K_i$ .

Por otro lado, con ayuda de los descriptores globales de la reactividad se pueden anticipar otros mecanismos de acción, como la transferencia secuencia electrón-protón (SET-PT). Los altos valores de  $I$  indican que las moléculas estudiadas difícilmente presentaran el mecanismo SET-PT, tanto en el medio fisiológico como en el medio lipofílico. Lo mismo ocurre con el mecanismo de transferencia secuencial de átomos de hidrógeno con pérdida de protones (SPLHAT). Aunque faltaría evaluar otros mecanismos de acción primaria, secundaria y terciaria para completar su estudio como antirradicales, así como de sus posibles metabolitos.

Finalmente, considerando el antecedente de posible baja toxicidad, buena solubilidad y fácil síntesis, Ir e It podrían ser buenos antirradicales sintéticos contra el estrés oxidativo.

---

# CAPÍTULO VIII

## DISEÑO DE NANOVECTORES PARA EL TRANSPORTE Y LIBERACIÓN MEJORADOS DE ANTIOXIDANTES

---

### VIII.1 INTRODUCCIÓN

Se diseñaron nanovectores para el transporte y liberación dirigida de antirradicales, ácido chicórico (AC<sup>10</sup>) y éster fenético del ácido cafeico (CAPE). Los nanomateriales seleccionados fueron el óxido de grafeno (OG) y el fluorografeno del estudio previo del capítulo V. Los modelos seleccionados aquí, fueron el G-F, por ser el modelo más completo del OG realizado en este trabajo, y el G-FR5 del fluorografeno; ambos resultaron ser los modelos con mayor reactividad y capacidad predicha para poder ser funcionalizados.

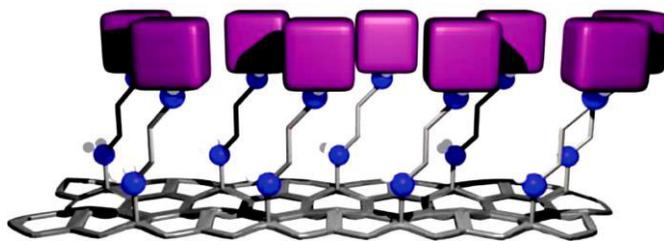
El OG ha sido empleado como plataforma para el transporte de fármacos debido a que los grupos funcionales que presenta pueden unirse covalentemente a los fármacos [129, 130]. El fluorografeno tiene una estabilidad similar a la del Teflón® y exhibe excelentes propiedades como sensor para el estudio de biomoléculas [262]; se ha demostrado su susceptibilidad de sustitución nucleofílica, abriendo la posibilidad de sufrir modificaciones covalentes y la preparación de distintos derivados de grafeno [112, 263]. A diferencia del OG, el fluorografeno proporciona un único enlace reactivo en lugar de un conjunto de grupos funcionales, lo que simplifica la química. El fluorografeno ha sido modificado covalentemente con grupos aminos [264] como la etilendiamina [265], **Fig. 50**, abriendo la posibilidad a que el fluorografeno pueda ser una plataforma para el transporte de fármacos. Hasta donde sabemos, aquí se propone por primera vez, al fluorografeno para actuar como transportador de fármacos con posibilidad de ser aún mejor que el OG, debido a una mayor

---

<sup>10</sup> Se cambió la abreviatura de CA a AC para las finalidades de este capítulo.

## DISEÑO DE NANOVECTORES PARA EL TRANSPORTE Y LIBERACIÓN MEJORADOS DE ANTIOXIDANTES

simplicidad química, mejor acarreo de fármacos y aplicación de conocimientos adquiridos de los modelos de OG.



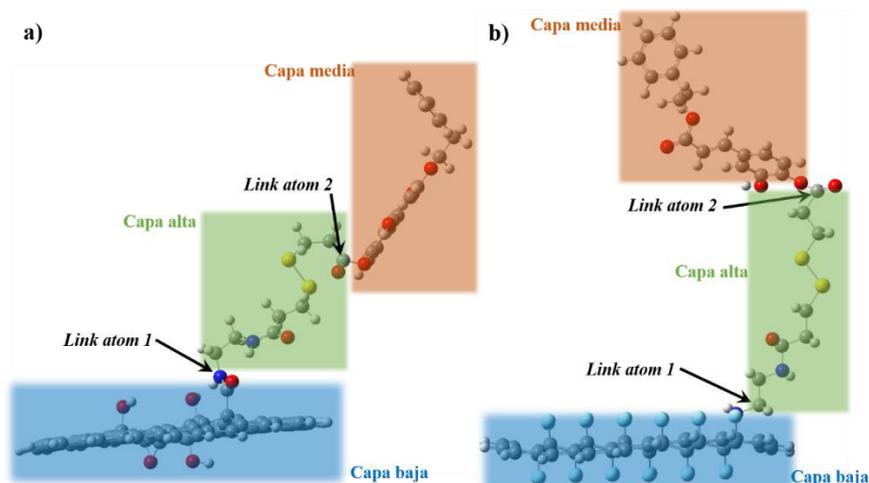
**Figura 50** Capa de fluorografeno funcionalizada covalentemente con etilendiamina (EDA). Imagen extraída de la referencia [265].

Para el diseño de los nanovectores, OG y el fluorografeno, primero se funcionalizaron con la etilendiamina (EDA) como una representación de la polietilenamina (PEI), ya que este se ha reportado que confiere buena solubilidad, biocompatibilidad y reduce la toxicidad de los nanomateriales [14, 131]. Para la liberación dirigida se propone que respondan a estímulos redox mediante la diferencia de concentraciones del GSH y para la liberación del fármaco debe haber un enlace disulfuro. En este caso se utilizará el ácido 3,3'-ditiodipropionico (DS) ya reportado en la literatura con este fin [126]. Luego se añadirá el antirradical, AC o CAPE.

### VIII.2 METODOLOGÍA

Para el estudio de los nanovectores, se empleó el método ONIOM en Gaussian09. Debido al tamaño de los sistemas, estos se dividieron en tres capas, manteniendo a OG y fluorografeno fijos (sin optimización de geometría). La primera capa es el grafeno o derivado fijo, la segunda capa es el *crosslinker* o molécula orgánica puente que, en este caso, son EDA y DS, finalmente, la tercera capa es el AR. Las capas así definidas se aprecian en la **Fig. 51**. El nivel de teoría que para la capa alta es M06-2X/6-31\*G(d), para la capa media es M06-2X/6-31G; y para la capa baja, M06-2X/6-31G.

## DISEÑO DE NANOVECTORES PARA EL TRANSPORTE Y LIBERACIÓN MEJORADOS DE ANTIOXIDANTES



**Figura 51** Capas y *link atoms* para los nanovectores de a) óxido de grafeno (modelo G-F) y b) fluorografeno (modelo G-FR5) con el éster fenetílico del ácido cafeico (CAPE). Escanear el código QR, para visualizar mejor los nanovectores.



El modelo de solvatación continua basado en la densidad (SMD) [175] fue utilizado para incluir los efectos del solvente como son agua ( $\epsilon = 78.36$ ) y pentiletanoato ( $\epsilon = 4.73$ ) para simular los efectos del medio fisiológico y del ambiente lipídico en todas las capas.

### VIII.2.1 Variación en los Descriptores Globales de la Reactividad

Las propiedades electrónicas fueron obtenidas por los descriptores globales y locales de la reactividad de la DFT Conceptual, discutidos en el capítulo II: potencial de ionización vertical ( $I$ ), afinidad electrónica vertical ( $A$ ), electronegatividad ( $\chi$ ), dureza química ( $\eta$ ), blandura absoluta ( $S$ ), electrofilicidad ( $\omega$ ), potencia electrodonadora ( $\omega^-$ ) y potencia electroaceptora ( $\omega^+$ ). Estos se consiguieron mediante cálculos simples sin relajación de la geometría de los conformeros de menor energía con el nivel de teoría ONIOM M06-2X/6-31\*G(d)//M06-2X/6-31G// M06-2X/6-31G.

### VIII.2.2 Estimación de la Toxicidad

Para estimar la posible toxicidad de los nanovectores, al igual que en el capítulo V, se compararon los valores del *gap* HOMO-LUMO y el momento dipolar de los nanovectores con el 3,3',4,4'-tetraclorobifenilo (bphenil, **Fig. 29**), conocido por ser una molécula que se bioacumula en medios lipídicos causando toxicidad. Con el fin de asegurar que el sistema no sea tóxico se evaluaron los sistemas resultantes después de la liberación del fármaco.

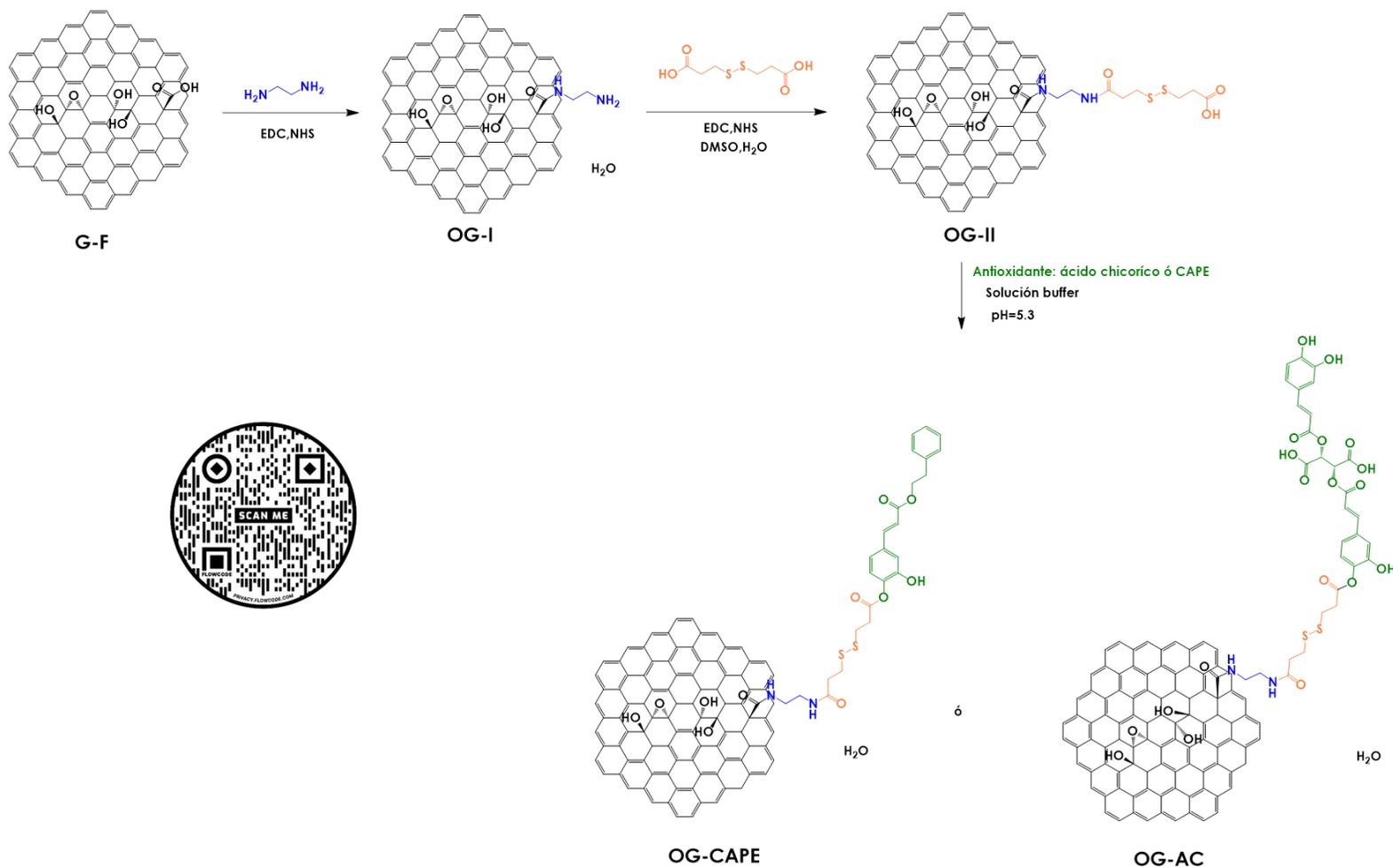
## VIII.3 RESULTADOS

### VIII.3.1 Diseño de los Nanovectores

Para el diseño del nanovector con óxido de grafeno, se tomó la estructura G-F del estudio del capítulo V. Para este, el grupo carboxilo reacciona con el grupo amina de la EDA para formar una amida, como se ve en el esquema de la **Fig. 52**, para este paso se requiere de N-hidroxisuccinimida (NHS) y 1-etil-3-(3-(dimetilamino)propil)carbodiimida (EDC) en dimetil sulfóxido (DMSO) para la formación del OG-I. Posteriormente, al grupo amina del EDA, mediante otra formación de amida, se le añade DS para obtener OG-II. Estos pasos de reacción han sido reportados en el trabajo del grupo de Cui y colaboradores [126]. Finalmente, al OG-II se le añade CAPE o AC mediante una esterificación, obteniendo OG-CAPE u OG-AC.

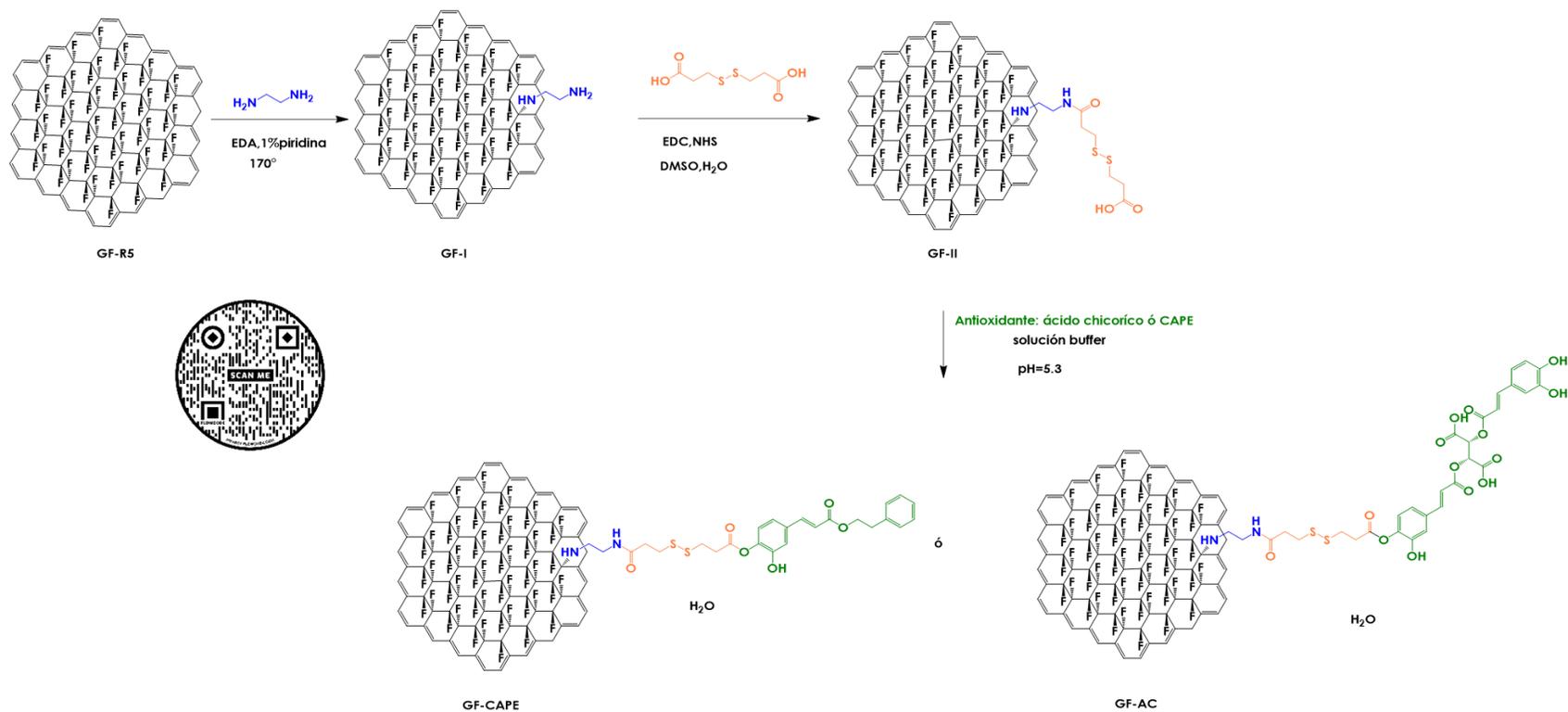
Para el diseño del nanovector con fluorografeno, se tomó la estructura G-FR5 del estudio del capítulo V. En la primera etapa para obtener GF-I, el átomo de flúor se sustituye por EDA, este paso fue reportado por Sheehan y colaboradores [265] en dónde el ~90% de los átomos de F se reemplazan por EDA, **Fig. 52**. En este trabajo, solo se está modelando con una unidad de EDA, esto es importante para los resultados de los descriptores globales de la reactividad y de la estimación de la toxicidad. Posteriormente, se propone seguir el esquema de Cui y colaboradores para añadir DS a GF-I, y obtener GF-II. Finalmente, se añaden AC y CAPE mediante una esterificación, obteniendo GF-CAPE y GF-AC.

# DISEÑO DE NANOVECTORES PARA EL TRANSPORTE Y LIBERACIÓN MEJORADOS DE ANTIOXIDANTES



**Figura 52** Esquema para la funcionalización del óxido de grafeno (G-F) para obtener los nanovectores OG-CAPE y OG-AC. Ver descripción en el texto. Escanear código QR para ampliar la imagen.

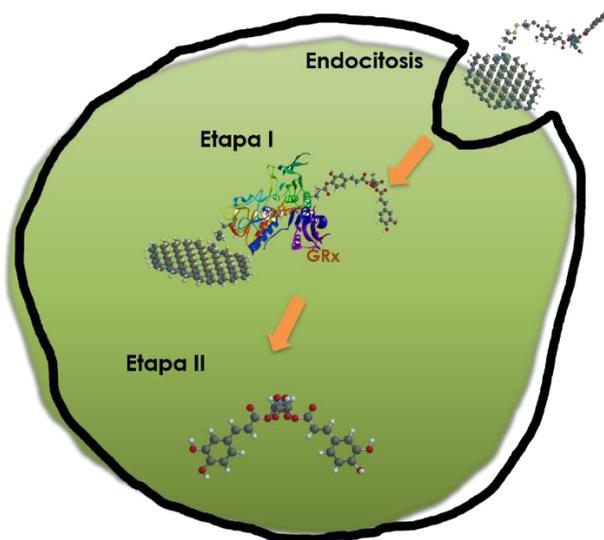
# DISEÑO DE NANOVECTORES PARA EL TRANSPORTE Y LIBERACIÓN MEJORADOS DE ANTIOXIDANTES



**Figura 53** Esquema para la funcionalización del óxido de grafeno (G-F) para obtener los nanovectores OG-CAPE y OG-AC. Ver descripción en el texto.

### VIII.3.2 Transporte y Liberación

Los nanovectores serán dirigidos hacia las células que sufren estrés oxidativo, guiados por el estímulo redox, es decir por la diferencia de concentraciones del GSH para su transporte. Posteriormente, de acuerdo con lo que se ha reportado, entrarán mediante endocitosis a la célula, **Fig. 54**. Para la liberación, se propone que ocurrirán dos etapas la cuales faltan sean confirmadas en cálculos posteriores. En la etapa I) en dónde se romperán los enlaces de disulfuro y la etapa II) en dónde se liberará el fármaco completamente.



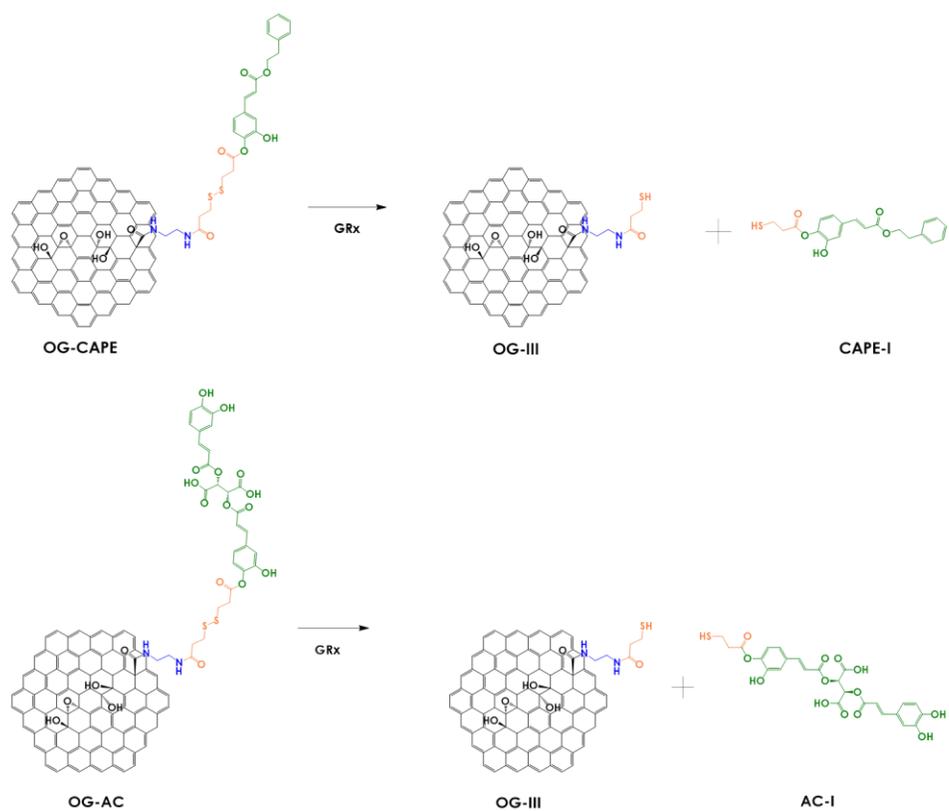
**Figura 54** Representación general del transporte y liberación de antirradicales unidos a nanomateriales mediante endocitosis respondiendo al estímulo redox. Ver descripción de este proceso en la descripción del texto.

La etapa I está representada en los esquemas de las **Figs 55** y **56**. Esta etapa, el enlace de disulfuro del nanovector se romperá en dos, así que para OG, se liberará OG-III y CAPE-I o AC-I como se ve en la **Fig. 56**. Mientras que en el caso del fluorografeno se obtienen GF-III y CAPE-I o AC-I, como se ven en la **Fig. 57**. En el caso de la etapa II, mediante una hidrólisis en el medio alcalino comúnmente presente en células cancerosas y con alto EO, se romperá el enlace de este, como se ve en la **Fig. 57**, liberando a los antirradicales AC y CAPE. Durante este proceso también se obtendrá la formación del ácido 3-mercaptopropiónico (3-MPA). El 3-MPA se ha usado como convulsionante (comúnmente para estimular la respiración), como bloque de construcción en la síntesis de proteínas [266] y de antirradicales [267]. Este se menciona como soluble en medios polares con un valor de Log *P* de 0.43. Sin embargo, faltan estudios sobre los mecanismos de reacción y calcular las constantes de

## DISEÑO DE NANOVECTORES PARA EL TRANSPORTE Y LIBERACIÓN MEJORADOS DE ANTIOXIDANTES

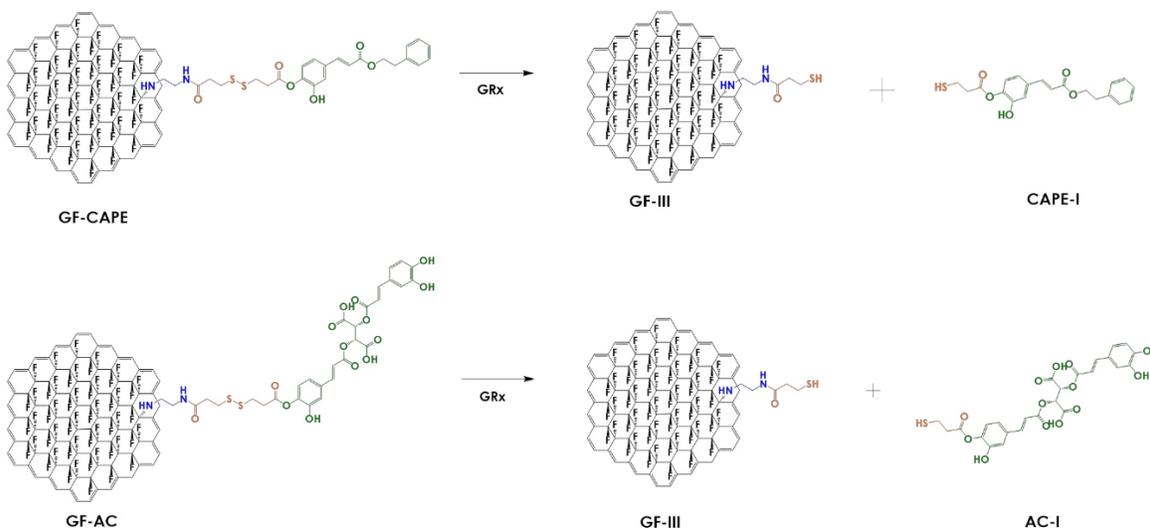
velocidad para evaluar la propuesta de las dos etapas, ya que podría ocurrir que las etapas I y II al mismo tiempo, o que primero ocurriera la etapa II.

En la siguiente sección se verán los resultados de reactividad y toxicidad de cada uno de estos sistemas.

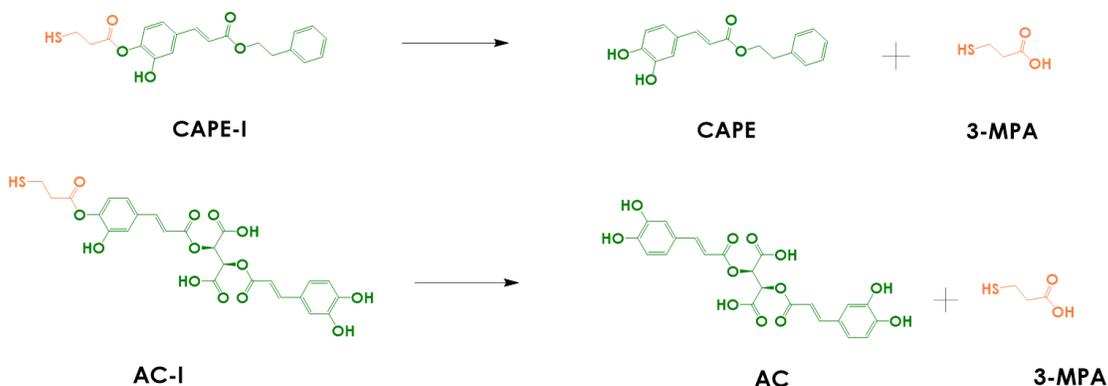


**Figura 55** Esquema de la etapa I para el óxido de grafeno.

## DISEÑO DE NANOVECTORES PARA EL TRANSPORTE Y LIBERACIÓN MEJORADOS DE ANTIOXIDANTES



**Figura 56** Esquema de la etapa I para el fluorografeno.



**Figura 57** Esquema de la etapa II.

### VIII.3.3 Variación en los Descriptores Globales de la Reactividad Química

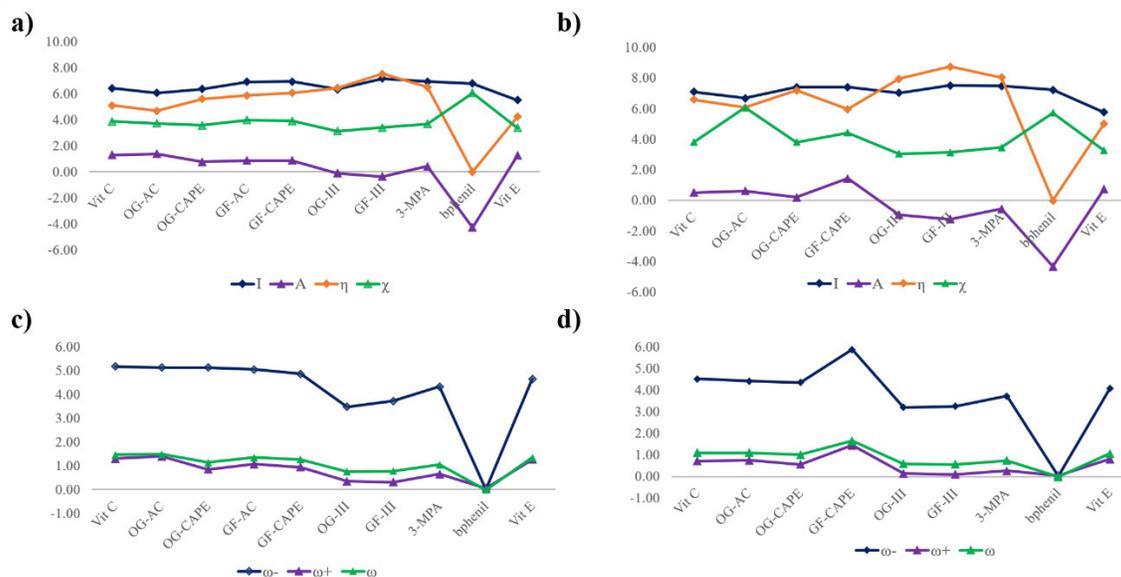
Para comparar los valores de nuestros nanovectores y de los sistemas liberados se compararon los valores de las vitaminas E y C (Vit E y Vit C, respectivamente) que fueron analizados en el capítulo VI. En la **Fig. 58** se presenta el valor calculado para *I* que, en general, indica qué tanto los nanovectores y los residuos tienen un valor más alto que las vitaminas, tanto en agua como en el pentiletanoato, indicando que será difícil la transferencia

## DISEÑO DE NANOVECTORES PARA EL TRANSPORTE Y LIBERACIÓN MEJORADOS DE ANTIOXIDANTES

de un electrón. Los nanovectores con fluorografeno tienen mayor resistencia a transferir un electrón que los de OG, aunque se debe recordar que un modelo más realista no tendría tantos átomos de flúor. De los sistemas OG-III y GF-III, también el de fluorografeno tiene un valor más alto para la transferencia de un electrón. Del mismo modo, el residuo 3-MPA tiene un valor alto de  $I$ . En cuanto a  $A$ , los sistemas, en general, tienen valores más pequeños que las vitaminas, en donde un valor alto significa más probabilidad de ganar un electrón. Los nanovectores de fluorografeno tienen valores más bajos de  $A$ , esto igual ocurre con el residuo GF-III y 3-MPA. En cuanto, a la electronegatividad, un valor bajo indica que la molécula tenderá a dar un electrón, en este caso, no todos los sistemas muestran esa preferencia debido a los valores altos de  $I$  y muy bajos de  $A$ . Por otro lado, el valor bajo de  $\eta$  significa que los sistemas son reactivos, resistiéndose menos al cambio en el número de electrones o a la deformación de la nube electrónica. Este comportamiento se ve con las vitaminas, que son buenos antioxidantes, sin embargo, para los sistemas evaluados el valor es bastante alto, principalmente para los sistemas de fluorografeno. Mientras que el bphenil, claramente se muestra como altamente reactivo.

En la **Fig. 57**, se muestran los valores de  $\omega$ ,  $\omega^+$  y  $\omega^-$ , que en general indican que los nanovectores y aún más los residuos no son muy reactivos. Como se ha mencionado previamente, de acuerdo con el trabajo de Domingo y colaboradores [243], las moléculas son fuertes electrófilos si tienen un valor pequeño de  $\omega$  ( $<0.8$  eV), se espera que actúen como buenos atrapadores de RL vía transferencia electrónica. En este caso, los sistemas que podrían ser ligeramente electrófilos serían OG-III y GF-III, principalmente en el pentiletanoato. Tomando en cuenta lo anterior, podrían transferir carga electrónica en el medio lipofílico. Asimismo, un valor grande de  $\omega^+$  significa alta probabilidad de aceptar carga electrónica; como se logra apreciar, los valores son pequeños, por lo que probablemente esto no ocurra. Análogamente, el valor bajo de  $\omega^-$  significa que hay una alta probabilidad de donar carga electrónica, en donde los sistemas OG-III y GF-III presentan valores más bajos.

## DISEÑO DE NANOVECTORES PARA EL TRANSPORTE Y LIBERACIÓN MEJORADOS DE ANTIOXIDANTES



**Figura 58** Descriptores globales de la reactividad calculados para los nanovectores y residuos a nivel teoría ONIOM M06-2X/6-31\*G(d)//M06-2X/6-31G//M06-2X/6-31G//SMD. Los resultados en fase agua corresponden a los incisos a) y c); mientras que los resultados en fase pentiletanoato corresponden a los incisos b) y d). En a) y b) se tienen las gráficas de los valores de los descriptores  $I$ ,  $A$  y  $\chi$ ; en c) y d) se tienen las gráficas de los valores de los descriptores  $\omega^-$ ,  $\omega^+$  y  $\omega$ .

Con estos resultados, se puede predecir que los nanovectores podrían ser estables en el organismo hasta llegar a su sitio de acción y que, una vez que se liberen los fármacos, los nanovectores serán aún menos reactivos, por lo que podrían ser excretados sin interactuar con las macromoléculas.

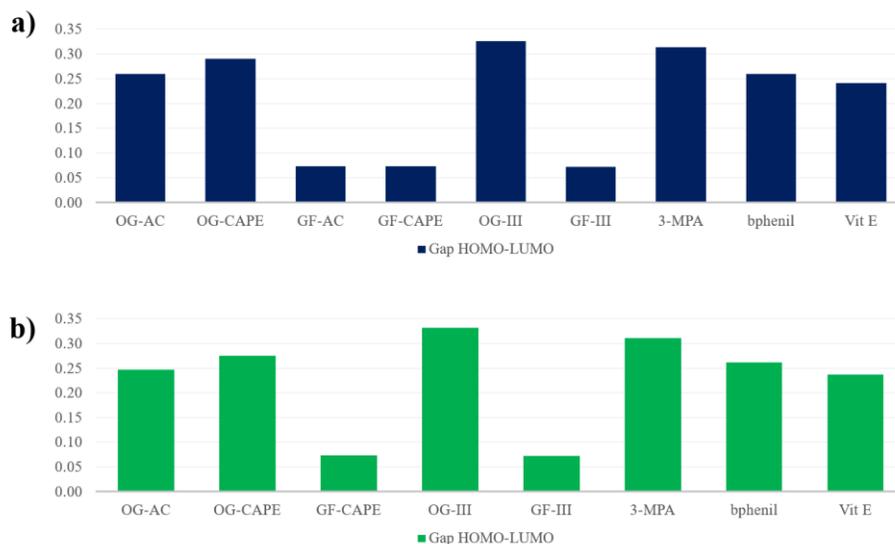
### VIII.3.4 Estimación de la Toxicidad

Con la finalidad de estimar la posible toxicidad de los sistemas, al igual que con los modelos finitos de los derivados de grafeno se comparó el valor del *gap* HOMO-LUMO y el momento dipolar, que se han correlacionado con la toxicidad de algunos compuestos [219–222]. En dónde el *gap* HOMO-LUMO está relacionado con el descriptor de la DFT Conceptual,  $\eta$ , un valor grande indica que la molécula es dura y un valor pequeño indica que es blanda. Por lo tanto, los nanomateriales que presentan un *gap* HOMO-LUMO bajo y  $\eta$  bajo podrían resultar tóxicos.

En la **Fig. 59**, se ve el valor del *gap* HOMO-LUMO de los sistemas que, en general, tienen un valor muy pequeño; esto indica que posiblemente son tóxicos. Sin embargo, como se ha mencionado antes, aquí solo se tiene una pequeña representación del PEI y en el

## DISEÑO DE NANOVECTORES PARA EL TRANSPORTE Y LIBERACIÓN MEJORADOS DE ANTIOXIDANTES

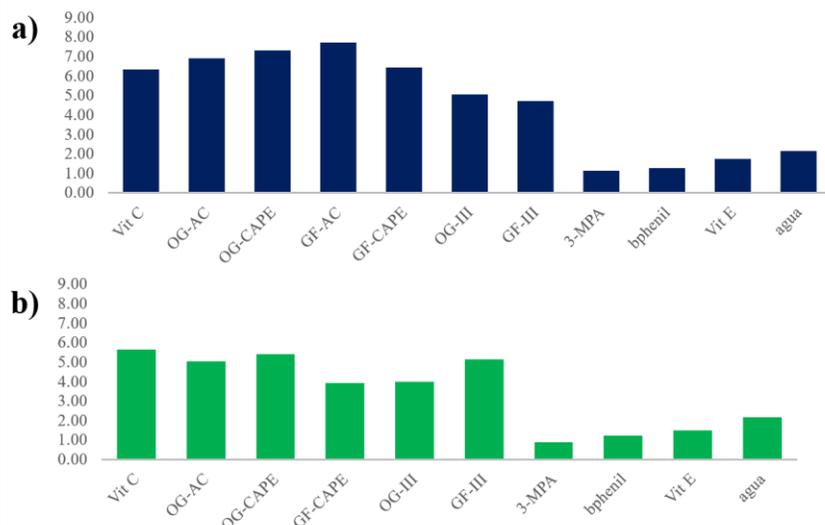
fluorografeno real hay menos cantidad de F. Por lo que, posiblemente debido al PEI esto podría no suceder.



**Figura 59** *gap* HOMO-LUMO y  $\eta$  de los nanovectores, vitamina E (Vit E) y 3,3',4,4'-tetraclorobifenilo (bphenil) en a) agua y b) en pentilacetato en M06-2X/6-31\*G(d)//M06-2X/6-31G//M06-2X/6-31G//SMD.

Los momentos dipolares bajos pueden estar relacionados con la bioacumulación inmediata en el tejido adiposo, correspondiente a moléculas lipofílicas; mientras que las moléculas con momentos dipolares altos son solubles en medios polares, hidrofílicas. Para comparar los resultados se tienen los valores de las vitaminas, del bphenil y del agua. El bphenil se conoce que es bioacumulable con un momento dipolar bajo, de igual manera la Vit E es liposoluble, aunque no tanto como el bphenil, y la Vit C es hidrosoluble con un momento dipolar alto. Como se puede ver en la **Fig. 60**, los sistemas resultan ser más hidrosolubles, excepto 3-MPA. Por lo que 3-MPA podría no ser reactivo como se ve en los descriptores de la reactividad química, pero podría bioacumularse. Para tener otra referencia, se calculó el valor de la LD<sub>50</sub> en el programa DruLiTo dando como resultado 401.67 mg/kg, entonces este compuesto podría causar toxicidad en el organismo, por lo que se debería cuidar la cantidad de este en el diseño de los nanovectores.

## DISEÑO DE NANOVECTORES PARA EL TRANSPORTE Y LIBERACIÓN MEJORADOS DE ANTIOXIDANTES



**Figura 60** Valores del momento dipolar para los derivados de grafeno, Vit C y bifenilo en a) agua y b) pentiletanoto en M06-2X/6-31\*G(d)//M06-2X/6-31G//M06-2X/6-31G//SMD.

## VIII.4 CONCLUSIONES

Se han diseñado nanovectores usando modelos finitos de grafeno, óxido de grafeno y fluorografeno para transportar el ácido chicórico (AC) y éster fenético del ácido cafeico (CAPE) para responder a estímulos redox. Se ha realizado un estudio con DFT empleando el nivel de teoría ONIOM M06-2X/6-31\*G(d)//M06-2X/6-31G//M06-2X/6-31G//SMD.

El diseño de los nanovectores consistió en la toma de datos experimentales de nanovectores reportados en la literatura que han liberado de manera eficaz el fármaco añadido [126]. En primer lugar, se eligieron los modelos finitos de óxido de grafeno y fluorografeno que se estudiaron previamente; el motivo de su selección fue que el óxido de grafeno, gracias a sus grupos funcionales, le permite unirse covalentemente a distintas moléculas [112, 263] y, por otra parte, el fluorografeno facilita la química, ya que puede unirse covalentemente a otras moléculas. En segundo lugar, a estos nanomateriales se les añadieron la etilendiamina (EDA) y el ácido 3,3'-ditiodipropionico (DS) que se unen por medio de la formación de grupos amida. En tercer lugar, los antioxidantes AC y CAPE se unen mediante la formación de grupos éster. También hemos propuesto que el transporte y liberación de los nanovectores es comparable con lo que se ha reportado en la literatura. Por lo tanto, los nanovectores serán dirigidos hacia las células que sufren de alto EO por la diferencia de concentraciones del

## DISEÑO DE NANOVECTORES PARA EL TRANSPORTE Y LIBERACIÓN MEJORADOS DE ANTIOXIDANTES

GSH y tal diferencia hará que solamente entren a estas células mediante endocitosis. Luego de su entrada, se han propuesto dos etapas para la liberación de los antirradicales; en la etapa I, la enzima GRx se encarga de romper enlaces disulfuro, así que se predice que se romperá el enlace disulfuro liberando el antirradical y parte del nanovector nombrados como OG-III y GF-III; en la etapa II, se liberará el antirradical dejando al 3-MPA, libre. Aunque debe mencionarse la falta un estudio detallado de la cinética de los mecanismos de acción para confirmar esta propuesta, que es parte de las perspectivas de esta tesis.

Posteriormente, se evaluaron sus propiedades con los descriptores globales de la reactividad química y de su toxicidad con los descriptores *gap* HOMO-LUMO y momento dipolar. En general, tanto los nanovectores como OG-III y GF-III resultaron ser poco reactivos, lo cual es deseable para evitar su interacción con las macromoléculas del organismo. Sin embargo, la molécula 3-MPA es una molécula con la que se debe cuidar la cantidad liberada, debido a su posible toxicidad, por ello sería adecuado proponer otra forma de unión de los antirradicales y evitar su liberación.

De este trabajo resulta relevante la utilización del fluorografeno para el transporte de fármacos, que posiblemente funcionaría mejor que el óxido de grafeno.

---

# CAPÍTULO IX

## CONCLUSIONES Y

## PERSPECTIVAS GENERALES

---

### IX.1 CONCLUSIONES GENERALES

Mediante métodos de la Química Teórica y Computacional, empleados durante el trabajo de investigación, se puede concluir que el grafeno y los derivados de grafeno son adecuados para interactuar con compuestos antirradicales mediante su funcionalización covalente, lo que favorece su transporte y liberación dirigida sobre células que sufren estrés oxidativo, bajo la propuesta de poder ser empleados en sistemas biológicos. El grafeno, los derivados de grafeno y los antioxidantes se estudiaron de manera individual para posteriormente unirse para formar nanovectores.

Se ha elucidado que el grafeno es susceptible de personalización de sus propiedades electrónicas a través de una funcionalización controlada. Los derivados de grafeno pueden aceptar cargas de electrones más fácilmente que el grafeno prístino, mejorando su posible quimisorción. Con los descriptores químicos de la reactividad local, se pueden ver los sitios específicos donde las moléculas externas pueden interactuar con los derivados de grafeno. Al estimar su toxicidad con propiedades como el *gap* HOMO-LUMO y el momento dipolar se ha encontrado que el grafeno y sus derivados podrían bioacumularse y causar toxicidad.

Por otro lado, de los antioxidantes evaluados, el ácido chicórico y el éster fenetílico del ácido cafeico resultaron ser buenos candidatos para su aplicación terapéutica debido a que presentan buena biodisponibilidad, baja toxicidad y potencial, en distintos mecanismos de acción, para neutralizar a los radicales libres.

Finalmente, bajo una búsqueda exhaustiva sobre el diseño de nanovectores para el transporte de fármacos, se lograron diseñar dos estrategias compuestas por el óxido de grafeno y el fluorografeno; este último es la propuesta principal de este trabajo para que sea utilizado en el transporte de fármacos. Del mismo modo, se ha diseñado que el transporte y

liberación de los antioxidantes a través de estímulos redox, presentes durante un alto estrés oxidativo, por medio del uso de enlaces disulfuro.

Con todo el análisis sistemático realizado en este trabajo se ha logrado proponer nuevos posibles antioxidantes y nuevos dispositivos para el transporte de estos fármacos, mediante el estudio teórico y computacional que, resultaron ser una buena propuesta que ahorrará tiempo y costo a otros grupos de investigación.

## IX.2 PERSPECTIVAS GENERALES

Como perspectivas de este trabajo, de las que se han mencionado a detalle en cada capítulo queda como trabajo pendiente:

- a) el estudio de la funcionalización de grafino, grafidiino y del grafitriino con el fin de ser analizados como posibles transportadores de fármacos;
- b) el estudio de los mecanismos de acción detallados del ácido chicórico y el éster fenético del ácido cafeico, así como su cinética y constantes de velocidad;
- c) realización de dinámicas moleculares para analizar la interacción de los antioxidantes con la enzima xantina oxidasa, para evaluar su tiempo de retención y sus interacciones;
- d) evaluar las propiedades, mecanismos de acción, biodisponibilidad y toxicidad de los metabolitos y derivados del ácido chicórico y del éster fenético del ácido cafeico; y
- e) el estudio del mecanismo de formación de los nanovectores, determinando sus constantes de velocidad.

---

# REFERENCIAS

---

1. Hayes JD, Dinkova-Kostova AT, Tew KD (2020) Oxidative Stress in Cancer. *Cancer Cell* 38:167–197.
2. Aljunaidy MM, Morton JS, Cooke CLM, Davidge ST (2017) Prenatal hypoxia and placental oxidative stress: Linkages to developmental origins of cardiovascular disease. *Am J Physiol - Regul Integr Comp Physiol* 313:R395–R399.
3. Kelly FJ, Fussell JC (2017) Role of oxidative stress in cardiovascular disease outcomes following exposure to ambient air pollution. *Free Radic Biol Med* 110:345–367.
4. Quiñonez-Flores CM, González-Chávez SA, Del Río Nájera D, Pacheco-Tena C (2016) Oxidative Stress Relevance in the Pathogenesis of the Rheumatoid Arthritis: A Systematic Review. *Biomed Res Int* 2016:6097417.
5. Umeno A, Biju V, Yoshida Y (2017) In vivo ROS production and use of oxidative stress-derived biomarkers to detect the onset of diseases such as Alzheimer's disease, Parkinson's disease, and diabetes. *Free Radic Res* 51:413–427.
6. Cheignon C, Tomas M, Bonnefont-Rousselot D, et al (2018) Oxidative stress and the amyloid beta peptide in Alzheimer's disease. *Redox Biol* 14:450–464.
7. Jiang T, Sun Q, Chen S (2016) Oxidative stress: A major pathogenesis and potential therapeutic target of antioxidative agents in Parkinson's disease and Alzheimer's disease. *Prog Neurobiol* 147:1–19.
8. Daenen K, Andries A, Mekahli D, et al (2019) Oxidative stress in chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol* 34:975–991.
9. Phaniendra A, Jestadi DB, Periyasamy L (2015) Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Indian J Clin Biochem* 30:11–26.
10. Escribano BM, Colin-Gonzalez AL, Tunez AS and I (2014) The Role of Melatonin in Multiple Sclerosis, Huntington's Disease and Cerebral Ischemia. *CNS Neurol. Disord. - Drug Targets* 13:1096–1119
11. Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C (2008) Free radicals, antioxidants in disease and health. *Int J Biomed Sci* 4:89–96
12. Sahebkar A, Serban M-C, Ursoniu S, Banach M (2015) Effect of curcuminoids on oxidative stress: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Funct Foods* 18:898–909.
13. Díaz-Cervantes E, García-Revilla MA, Robles J, Aguilera-Granja F (2017) Solubility of functionalized single-wall carbon nanotubes in water: a theoretical study. *Theor Chem Acc* 136:127.
14. Wang Z, Ciacchi L, Wei G (2017) Recent Advances in the Synthesis of Graphene-Based Nanomaterials for Controlled Drug Delivery. *Appl Sci* 7:1175.
15. Abedinzadeh Z (2001) Sulfur-centered reactive intermediates derived from the oxidation of sulfur compounds of biological interest. *Can J Physiol Pharmacol* 79:166–170
16. Pisoschi AM, Pop A (2015) The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *Eur J Med Chem* 97:55–74.
17. Willett WC (2006) The Mediterranean diet: science and practice. *Public Health Nutr* 9:105–110.
18. Poljsak B, Šuput D, Milisav I (2013) Achieving the Balance between ROS and Antioxidants: When to Use the Synthetic Antioxidants. *Oxid Med Cell Longev* 2013:956792.
19. Kuppusamy P, Zweier JL (1989) Characterization of free radical generation by xanthine oxidase. Evidence for hydroxyl radical generation. *J Biol Chem* 264:9880–9884
20. Kontos HA, Wei EP, Ellis EF, et al (1985) Appearance of superoxide anion radical in cerebral extracellular space during increased prostaglandin synthesis in cats. *Circ Res*

## REFERENCIAS

- 57:142–151.
21. Dröse S, Brandt U (2012) Molecular Mechanisms of Superoxide Production by the Mitochondrial Respiratory Chain. In: *Advances in Experimental Medicine and Biology, Mitochondr.* Springer, New York, NY, New York, pp 145–169
  22. Gutteridge JMC (1994) Biological origin of free radicals , and mechanisms of antioxidant protection. 91:133–140
  23. Halliwell B (1987) Oxidants and human disease: some new concepts. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol* 1:358–364
  24. Fenton HJH (1894) LXXIII.—Oxidation of tartaric acid in presence of iron. *J Chem Soc Trans* 65:899–910.
  25. Haber F, Weiss J, Pope WJ (1934) The catalytic decomposition of hydrogen peroxide by iron salts. *Proc R Soc London Ser A - Math Phys Sci* 147:332–351.
  26. De Grey ADNJ (2002) HO<sub>2</sub>\*: the forgotten radical. *DNA Cell Biol* 21:251–257.
  27. Cerutti PA (1985) Prooxidant states and tumor promotion. *Science* 227:375–381. <https://doi.org/10.1126/science.2981433>
  28. Finkel T, Holbrook NJ (2000) Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* 408:239–247.
  29. Schrader M, Fahimi HD (2006) Peroxisomes and oxidative stress. *Biochim Biophys Acta* 1763:1755–1766.
  30. Cheeseman KH, Slater TF (1993) An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull* 49:481–493.
  31. Kelley EE, Khoo NKH, Hundley NJ, et al (2010) Hydrogen peroxide is the major oxidant product of xanthine oxidase. *Free Radic Biol Med* 48:493–498.
  32. Vitale RM, Antenucci L, Gavagnin M, et al (2017) Structure-activity relationships of fraxamoside as an unusual xanthine oxidase inhibitor. *J Enzyme Inhib Med Chem* 32:345–354.
  33. Elion GB (1989) The purine path to chemotherapy. *Science* 244:41–47.
  34. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, et al (2007) Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 39:44–84.
  35. Nordberg J, Arnér ES (2001) Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radic Biol Med* 31:1287–1312.
  36. Sies H (2018) On the history of oxidative stress: Concept and some aspects of current development. *Curr Opin Toxicol* 7:122–126.
  37. Dröge W (2002) Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* 82:47–95.
  38. Trachootham D, Lu W, Ogasawara MA, et al (2008) Redox Regulation of Cell Survival. *Antioxid Redox Signal* 10:1343–1374.
  39. Babior BM (2004) NADPH oxidase. *Curr Opin Immunol* 16:42–47.
  40. Pacher P, Beckman JS, Liaudet L (2007) Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol Rev* 87:315–424. 6
  41. Genestra M (2007) Oxyl radicals, redox-sensitive signalling cascades and antioxidants. *Cell Signal* 19:1807–1819.
  42. Sahiner UM, Birben E, Erzurum S, et al (2011) Oxidative stress in asthma. *World Allergy Organ J* 4:151–158.
  43. Kruk J, Kubasik-Kladna K, Aboul-Enein HY (2015) The Role Oxidative Stress in the Pathogenesis of Eye Diseases: Current Status and a Dual Role of Physical Activity. *Mini Rev Med Chem* 16:241–257.
  44. Gerber PA, Rutter GA (2017) The Role of Oxidative Stress and Hypoxia in Pancreatic Beta-Cell Dysfunction in Diabetes Mellitus. *Antioxidants Redox Signal* 26:501–518.
  45. Pryor WA (1988) Why is the hydroxyl radical the only radical that commonly adds to DNA?

## REFERENCIAS

- Hypothesis: It has a rare combination of high electrophilicity, high thermochemical reactivity, and a mode of production that can occur near DNA. *Free Radic Biol Med* 4:219–223.
46. Dizdaroglu M, Jaruga P (2012) Mechanisms of free radical-induced damage to DNA. *Free Radic Res* 46:382–419.
  47. Galano A, Alvarez-Idaboy JR (2009) Guanosine + OH radical reaction in aqueous solution: A reinterpretation of the UV-vis data based on thermodynamic and kinetic calculations. *Org Lett* 11:5114–5117.
  48. Pryor WA (1986) Oxy-Radicals and Related Species: Their Formation, Lifetimes, and Reactions. *Annu Rev Physiol* 48:657–667.
  49. Marnett LJ (1987) promotion. 8:1365–1373
  50. Wei T, Chen C, Hou J, et al (2000) Nitric oxide induces oxidative stress and apoptosis in neuronal cells. *Biochim Biophys Acta - Mol Cell Res* 1498:72–79.
  51. Pacher P, Beckman JS, Liaudet L (2007) suggests cell models with genetic deletion of iNOS as control experiment. Can we do this too? Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol Rev* 87:315–424
  52. Giles GI, Tasker KM, Jacob C (2001) Hypothesis: the role of reactive sulfur species in oxidative stress. *Free Radic Biol Med* 31:1279–1283.
  53. Mishanina T V., Libiad M, Banerjee R (2015) Biogenesis of reactive sulfur species for signaling by hydrogen sulfide oxidation pathways. *Nat Chem Biol* 11:457–464.
  54. Willcox JK, Ash SL, Catignani GL (2004) Antioxidants and prevention of chronic disease. *Crit Rev Food Sci Nutr* 44:275–295.
  55. Halliwell B (2007) Biochemistry of oxidative stress. *Biochem Soc Trans* 35:1147–1150.
  56. Lu SC (2013) Glutathione synthesis. *Biochim Biophys Acta* 1830:3143–3153.
  57. Arnao MB, Hernández-Ruiz J (2006) The Physiological Function of Melatonin in Plants. *Plant Signal Behav* 1:89–95.
  58. Poeggeler B, Saarela S, Reiter RJ, et al (1994) Melatonin--a highly potent endogenous radical scavenger and electron donor: new aspects of the oxidation chemistry of this indole accessed in vitro. *Ann N Y Acad Sci* 738:419–420.
  59. Álvarez-Diduk R, Galano A, Tan DX, Reiter RJ (2015) N-Acetylserotonin and 6-Hydroxymelatonin against Oxidative Stress: Implications for the Overall Protection Exerted by Melatonin. *J Phys Chem B* 119:8535–8543.
  60. Galano A (2011) On the direct scavenging activity of melatonin towards hydroxyl and a series of peroxy radicals. *Phys Chem Chem Phys* 13:7178–7188.
  61. Galano A, Tan DX, Reiter RJ (2013) On the free radical scavenging activities of melatonin's metabolites, AFMK and AMK. *J Pineal Res* 54:245–257.
  62. Álvarez-Diduk R, Galano A, Tan DX, Reiter RJ (2016) The key role of the sequential proton loss electron transfer mechanism on the free radical scavenging activity of some melatonin-related compounds. *Theor Chem Acc* 135:38.
  63. Spartan WI (2018) Spartan 18
  64. Wang YJ, Pan MH, Cheng AL, et al (1997) Stability of curcumin in buffer solutions and characterization of its degradation products. *J Pharm Biomed Anal* 15:1867–1876.
  65. Joe B, Vijaykumar M, Lokesh BR (2004) Biological properties of curcumin-cellular and molecular mechanisms of action. *Crit Rev Food Sci Nutr* 44:97–111.
  66. Goel A, Kunnumakkara AB, Aggarwal BB (2008) Curcumin as “Curecumin”: from kitchen to clinic. *Biochem Pharmacol* 75:787–809.
  67. Mirzabeigi P, Mohammadpour AH, Salarifar M, et al (2015) The Effect of Curcumin on some of Traditional and Non-traditional Cardiovascular Risk Factors: A Pilot Randomized, Double-blind, Placebo-controlled Trial. *Iran J Pharm Res IJPR* 14:479–486
  68. Pivari F, Mingione A, Brasacchio C, Soldati L (2019) Curcumin and Type 2 Diabetes

## REFERENCIAS

- Mellitus: Prevention and Treatment. *Nutrients* 11:1837.
69. Daily JW, Yang M, Park S (2016) Efficacy of Turmeric Extracts and Curcumin for Alleviating the Symptoms of Joint Arthritis: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Clinical Trials. *J Med Food* 19:717–729.
  70. Mishra S, Palanivelu K (2008) The effect of curcumin (turmeric) on Alzheimer’s disease: An overview. *Ann Indian Acad Neurol* 11:13–19.
  71. Eghbaliferiz S, Farhadi F, Barreto GE, et al (2020) Effects of curcumin on neurological diseases: focus on astrocytes. *Pharmacol Reports* 72:769–782.
  72. Lin X, Bai D, Wei Z, et al (2019) Curcumin attenuates oxidative stress in RAW264.7 cells by increasing the activity of antioxidant enzymes and activating the Nrf2-Keap1 pathway. *PLoS One* 14:e0216711.
  73. Ak T, Gülçin I (2008) Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin. *Chem Biol Interact* 174:27–37.
  74. Sun Y-M, Zhang H-Y, Chen D-Z, Liu C-B (2002) Theoretical Elucidation on the Antioxidant Mechanism of Curcumin: A DFT Study. *Org Lett* 4:2909–2911.
  75. Galano A, Álvarez-Diduk R, Ramírez-Silva MT, et al (2009) Role of the reacting free radicals on the antioxidant mechanism of curcumin. *Chem Phys* 363:13–23.
  76. Lee J, Scagel CF (2009) Chicoric acid found in basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves. *Food Chem* 115:650–656.
  77. Zhu X, Huang F, Xiang X, et al (2018) Evaluation of the potential of chicoric acid as a natural food antioxidant. *Exp Ther Med* 16:351–3657.
  78. Healy EF, Sanders J, King PJ, Robinson WEJ (2009) A docking study of L-chicoric acid with HIV-1 integrase. *J Mol Graph Model* 27:584–589.
  79. Tousch D, Lajoix A-D, Hosy E, et al (2008) Chicoric acid, a new compound able to enhance insulin release and glucose uptake. *Biochem Biophys Res Commun* 377:131–135.
  80. Thygesen L, Thulin J, Mortensen A, et al (2007) Antioxidant activity of chicoric acid and alkamides from *Echinacea purpurea*, alone and in combination. *Food Chem* 101:74–81.
  81. Lushchak VI, Pinchuk I, Shoval H, et al (2015) Antioxidant properties of several caffeic acid derivatives: A theoretical study. *Redox Biol* 6:183–197.
  82. Carreño AL, Alday E, Quintero J, et al (2017) Protective effect of Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) against oxidative stress. *J Funct Foods* 29:178–184.
  83. KISHIMOTO N, KAKINO Y, IWAI K, et al (2005) *In Vitro* Antibacterial, Antimutagenic and Anti-Influenza Virus Activity of Caffeic Acid Phenethyl Esters. *Biocontrol Sci* 10:155–161.
  84. Jo S-Y, Lee N, Hong S-M, et al (2013) Caffeic Acid Phenethyl Ester Inhibits Diesel Exhaust Particle—Induced Inflammation of Human Middle Ear Epithelial Cells via NOX4 Inhibition. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 122:595–600.
  85. Liao H-F, Chen Y-Y, Liu J-J, et al (2003) Inhibitory Effect of Caffeic Acid Phenethyl Ester on Angiogenesis, Tumor Invasion, and Metastasis. *J Agric Food Chem* 51:7907–7912.
  86. Wei X, Ma Z, Fontanilla C V, et al (2008) Caffeic acid phenethyl ester prevents cerebellar granule neurons (CGNs) against glutamate-induced neurotoxicity. *Neuroscience* 155:1098–1105.
  87. Murtaza G, Karim S, Akram MR, et al (2014) Caffeic Acid Phenethyl Ester and Therapeutic Potentials. *Biomed Res Int* 2014:145342.
  88. Galano A, Raúl Alvarez-Idaboy J (2019) Computational strategies for predicting free radical scavengers’ protection against oxidative stress: Where are we and what might follow? *Int J Quantum Chem* 119.
  89. Rose RC, Bode AM (1993) Biology of free radical scavengers: an evaluation of ascorbate. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol* 7:1135–1142
  90. Niemeyer CM (2006) Nanobiotechnology. *Rev. Cell Biol. Mol. Med.*

## REFERENCIAS

91. (2020) Nanomedicine and the COVID-19 vaccines. *Nat Nanotechnol* 15:963.
92. Qi B, Wang C, Ding J, Tao W (2019) Editorial: Applications of Nanobiotechnology in Pharmacology. *Front Pharmacol* 10:1451.
93. Kayser O, Lemke A, Hernandez-Trejo N The Impact of Nanobiotechnology on the Development of New Drug Delivery Systems. *Curr. Pharm. Biotechnol.* 6:3–5
94. Cho K, Wang X, Nie S, et al (2008) Therapeutic nanoparticles for drug delivery in cancer. *Clin cancer Res an Off J Am Assoc Cancer Res* 14:1310–1316.
95. Novoselov KS, Geim AK, Morozov S V, et al (2004) Electric Field Effect in Atomically Thin Carbon Films. *Science* (80- ) 306:666–669.
96. Sun X, Liu Z, Welsher K, et al (2008) Nano-Graphene Oxide for Cellular Imaging and Drug Delivery. *Nano Res* 1:203–212.
97. Falcao EHL, Wudl F (2007) Carbon allotropes: Beyond graphite and diamond. *J Chem Technol Biotechnol* 82:524–531.
98. Geim AK, Novoselov KS (2007) The rise of graphene. *Nat Mater* 6:183–191.
99. Bharech S, Kumar R (2015) A Review on the Properties and Applications of Graphene. *J Mater Sci Mech Eng* 2:70–73
100. Katsnelson MI (2007) Graphene: carbon in two dimensions. *Mater Today* 10:20–27.
101. Georgantzinos SK, Katsareas DE, Anifantis NK (2011) Graphene characterization: A fully non-linear spring-based finite element prediction. *Phys E Low-dimensional Syst Nanostructures* 43:1833–1839.
102. Chung DDL (2002) Review Graphite. *J Mater Sci* 37:1475–1489.
103. Luo B, Liu S, Zhi L (2012) Chemical Approaches toward Graphene-Based Nanomaterials and their Applications in Energy-Related Areas. *Small* 8:630–646.
104. Gomez De Arco L, Zhang Y, Schlenker CW, et al (2010) Continuous, Highly Flexible, and Transparent Graphene Films by Chemical Vapor Deposition for Organic Photovoltaics. *ACS Nano* 4:2865–2873.
105. Wang X, Zhi L, Tsao N, et al (2008) Transparent carbon films as electrodes in organic solar cells. *Angew Chem Int Ed Engl* 47:2990–2992.
106. Tang K, White RJ, Mu X, et al (2012) Hollow Carbon Nanospheres with a High Rate Capability for Lithium-Based Batteries. *ChemSusChem* 5:400–403.
107. Ke Q, Wang J (2016) Graphene-based materials for supercapacitor electrodes – A review. *J Mater* 2:37–54.
108. Navalón S, Herance JR, Álvaro M, García H (2018) General aspects in the use of graphenes in catalysis. *Mater Horiz* 5:363–378.
109. Inagaki M, Kang F (2014) Graphene derivatives: graphane, fluorographene, graphene oxide, graphyne and graphdiyne. *J Mater Chem A* 2:13193–13206.
110. Tan SM, Sofer Z, Pumera M (2013) Biomarkers Detection on Hydrogenated Graphene Surfaces: Towards Applications of Graphane in Biosensing. *Electroanalysis* 25:703–705.
111. Bakandritsos A, Jakubec P, Pykal M, Otyepka M (2019) Covalently functionalized graphene as a supercapacitor electrode material. *FlatChem* 13:25–33.
112. Chronopoulos DD, Bakandritsos A, Pykal M, et al (2017) Chemistry, properties, and applications of fluorographene. *Appl Mater today* 9:60–70.
113. Singh DP, Herrera CE, Singh B, et al (2018) Graphene oxide: An efficient material and recent approach for biotechnological and biomedical applications. *Mater Sci Eng C* 86:173–197.
114. Puigdollers AR, Alonso G, Gamallo P (2016) First-principles study of structural, elastic and electronic properties of  $\alpha$ -,  $\beta$ - and  $\gamma$ -graphyne. *Carbon N Y* 96:879–887.
115. Cranford SW, Brommer DB, Buehler MJ (2012) Extended graphynes: simple scaling laws for stiffness, strength and fracture. *Nanoscale* 4:7797–7809.
116. Srinivasu K, Ghosh SK (2012) Graphyne and Graphdiyne: Promising Materials for

## REFERENCIAS

- Nanoelectronics and Energy Storage Applications. *J Phys Chem C* 116:5951–5956.
117. Afsahi S, Lerner MB, Goldstein JM, et al (2018) Novel graphene-based biosensor for early detection of Zika virus infection. *Biosens Bioelectron* 100:85–88.
  118. Peña-Bahamonde J, Nguyen HN, Fanourakis SK, Rodrigues DF (2018) Recent advances in graphene-based biosensor technology with applications in life sciences. *J Nanobiotechnology* 16:75.
  119. Zhang Q, Wu Z, Li N, et al (2017) Advanced review of graphene-based nanomaterials in drug delivery systems: Synthesis, modification, toxicity and application. *Mater Sci Eng C* 77:1363–1375.
  120. Zainal-Abidin MH, Hayyan M, Ngoh GC, Wong WF (2019) From nanoengineering to nanomedicine: A facile route to enhance biocompatibility of graphene as a potential nano-carrier for targeted drug delivery using natural deep eutectic solvents. *Chem Eng Sci* 195:95–106.
  121. Imani R, Mohabatpour F, Mostafavi F (2018) Graphene-based Nano-Carrier modifications for gene delivery applications. *Carbon N Y* 140:569–591.
  122. Campbell E, Hasan MT, Pho C, et al (2019) Graphene Oxide as a Multifunctional Platform for Intracellular Delivery, Imaging, and Cancer Sensing. *Sci Rep* 9:416.
  123. Wang X, Wang C, Qu K, et al (2010) Ultrasensitive and Selective Detection of a Prognostic Indicator in Early-Stage Cancer Using Graphene Oxide and Carbon Nanotubes. *Adv Funct Mater* 20:3967–3971.
  124. Li B, Tan H, Jenkins D, et al (2020) Clinical detection of neurodegenerative blood biomarkers using graphene immunosensor. *Carbon N Y* 168:144–162.
  125. Díaz-Cervantes E, Robles J, Aguilera-Granja F (2018) Understanding the structure, electronic properties, solubility in water, and protein interactions of three novel nano-devices against ovarian cancer: a computational study. *J Nanoparticle Res* 20:266. <https://doi.org/10.1007/s11051-018-4362-8>
  126. Chen H, Wang Z, Zong S, et al (2014) SERS-Fluorescence Monitored Drug Release of a Redox-Responsive Nanocarrier Based on Graphene Oxide in Tumor Cells. *ACS Appl Mater Interfaces* 6:17526–17533.
  127. Malig J, Jux N, Guldi DM (2013) Toward multifunctional wet chemically functionalized graphene-integration of oligomeric, molecular, and particulate building blocks that reveal photoactivity and redox activity. *Acc Chem Res* 46:53–64.
  128. Georgakilas V, Otyepka M, Bourlinos AB, et al (2012) Functionalization of Graphene: Covalent and Non-Covalent Approaches, Derivatives and Applications. *Chem Rev* 112:6156–6214.
  129. Miao W, Shim G, Lee S, et al (2013) Safety and tumor tissue accumulation of pegylated graphene oxide nanosheets for co-delivery of anticancer drug and photosensitizer. *Biomaterials* 34:3402–3410.
  130. Xu H, Fan M, Elhissi AMA, et al (2015) PEGylated graphene oxide for tumor-targeted delivery of paclitaxel. *Nanomedicine (Lond)* 10:1247–1262.
  131. Zhang L, Lu Z, Zhao Q, et al (2011) Enhanced Chemotherapy Efficacy by Sequential Delivery of siRNA and Anticancer Drugs Using PEI-Grafted Graphene Oxide. *Small* 7:460–464.
  132. Zhang Y, Mo G, Li X, et al (2011) A graphene modified anode to improve the performance of microbial fuel cells. *J Power Sources* 196:5402–5407.
  133. Williams LB, Metge DW, Eberl DD, et al (2011) What makes a natural clay antibacterial? *Environ Sci Technol* 45:3768–3773. 8
  134. Li B, Yang J, Huang Q, et al (2013) Biodistribution and pulmonary toxicity of intratracheally instilled graphene oxide in mice. *NPG Asia Mater* 5:e44–e44.
  135. Wang C, Ravi S, Garapati US, et al (2013) Multifunctional Chitosan Magnetic-Graphene

## REFERENCIAS

- (CMG) Nanoparticles: a Theranostic Platform for Tumor-targeted Co-delivery of Drugs, Genes and MRI Contrast Agents. *J Mater Chem B* 1:4396–4405.
136. Feng L, Liu Z (2011) Graphene in biomedicine: opportunities and challenges. *Nanomedicine (Lond)* 6:317–324.
  137. Tonelli FMP, Goulart VAM, Gomes KN, et al (2015) Graphene-based nanomaterials: biological and medical applications and toxicity. *Nanomedicine* 10:2423–2450.
  138. Ema M, Gamo M, Honda K (2017) A review of toxicity studies on graphene-based nanomaterials in laboratory animals. *Regul Toxicol Pharmacol* 85:7–24.
  139. Jensen F (2006) Introduction to Computational Chemistry. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA
  140. Young DC (2001) Introduction. *Comput. Chem.* 1–4
  141. Lewars E (2006) Computational Chemistry: Introduction to the Theory and Applications of Molecular and Quantum Mechanics. *Comput Chem*
  142. Hermann J, Schätzle Z, Noé F (2020) Deep-neural-network solution of the electronic Schrödinger equation. *Nat Chem* 12:891–897.
  143. Young DC (2001) Fundamental Principles. *Comput. Chem.* 5–18
  144. Young DC (2001) Density Functional Theory. *Comput. Chem.* 42–48
  145. Thomas LH (1927) The calculation of atomic fields. *Math Proc Cambridge Philos Soc* 23:542–548.
  146. Fermi E (1927) Un metodo statistico per la determinazione di alcune proprietà dell'atome. *Rend Accad Naz Lincei* 6:32
  147. Fermi E (1928) A statistical method for the determination of some atomic properties and the application of this method to the theory of the periodic system of elements. *Z Phys* 48:29
  148. Fermi E (1928) Sulla deduzione statistica di alcune proprietà dell'atomo. Applicazione alla teoria del sistema periodico degli elementi. *Rend Lincei* 7:342
  149. Kohn W, Sham LJ (1965) Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects. *Phys Rev* 140:A1133–A1138.
  150. Perdew JP, Ruzsinszky A, Constantin LA, et al (2009) Some Fundamental Issues in Ground-State Density Functional Theory: A Guide for the Perplexed. *J Chem Theory Comput* 5:902–908.
  151. Zhang IY, Xu X (2021) On the top rung of Jacob's ladder of density functional theory: Toward resolving the dilemma of SIE and NCE. *WIREs Comput Mol Sci* 11:e1490.
  152. Mardirossian N, Head-Gordon M (2016) How Accurate Are the Minnesota Density Functionals for Noncovalent Interactions, Isomerization Energies, Thermochemistry, and Barrier Heights Involving Molecules Composed of Main-Group Elements? *J Chem Theory Comput* 12:4303–4325.
  153. Zhao Y, Truhlar DG (2006) A new local density functional for main-group thermochemistry, transition metal bonding, thermochemical kinetics, and noncovalent interactions. *J Chem Phys* 125:194101.
  154. Perdew JP, Burke K, Ernzerhof M (1996) Generalized Gradient Approximation Made Simple. *Phys Rev Lett* 77:3865–3868. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.77.3865>
  155. Geerlings P, De Proft F, Langenaeker W (2003) Conceptual Density Functional Theory. *Chem Rev* 103:1793–1874.
  156. Janak JF (1978) Proof that  $\partial E/\partial n_i = \epsilon$  in density-functional theory. *Phys Rev B* 18:7165–7168.
  157. Casida ME (1999) Correlated optimized effective-potential treatment of the derivative discontinuity and of the highest occupied Kohn-Sham eigenvalue: A Janak-type theorem for the optimized effective-potential model. *Phys Rev B* 59:4694–4698.
  158. Parr RG, Pearson RG (1983) Absolute hardness: companion parameter to absolute electronegativity. *J Am Chem Soc* 105:7512–7516.

## REFERENCIAS

159. Parr RG, Yang W (1984) Density functional approach to the frontier-electron theory of chemical reactivity. *J Am Chem Soc* 106:4049–4050.
160. Gázquez JL, Cedillo A, Vela A (2007) Electrodonating and Electroaccepting Powers. *J Phys Chem A* 111:1966–1970.
161. Chandra AK, Nguyen MT (1998) Density Functional Approach to Regiochemistry, Activation Energy, and Hardness Profile in 1,3-Dipolar Cycloadditions. *J Phys Chem A* 102:6181–6185.
162. Matsuzawa NN, Ishitani A, Dixon DA, Uda T (2001) Time-Dependent Density Functional Theory Calculations of Photoabsorption Spectra in the Vacuum Ultraviolet Region. *J Phys Chem A* 105:4953–4962.
163. Roy RK (2004) On the Reliability of Global and Local Electrophilicity Descriptors. *J Phys Chem A* 108:4934–4939.
164. Yang W, Parr RG (1985) Hardness, softness, and the Fukui function in the electronic theory of metals and catalysis. *Proc Natl Acad Sci* 82:6723–6726.
165. Slater JC (1930) Atomic Shielding Constants. *Phys Rev* 36:57–64.
166. Levine IN, Rodriguez AR, Pascual AB, Román JZ (2001) *Química cuántica*. Pearson Educación
167. Ågren H, Mikkelsen K V (1991) Theory of solvent effects on electronic spectra. *J Mol Struct THEOCHEM* 234:425–467.
168. Roux B, Simonson T (1999) Implicit solvent models. *Biophys Chem* 78:1–20.
169. Tomasi J, Persico M (1994) Molecular Interactions in Solution: An Overview of Methods Based on Continuous Distributions of the Solvent. *Chem Rev* 94:2027–2094.
170. Miertuš S, Scrocco E, Tomasi J (1981) Electrostatic interaction of a solute with a continuum. A direct utilization of AB initio molecular potentials for the prevision of solvent effects. *Chem Phys* 55:117–129.
171. Cammi R, Tomasi J (1995) Remarks on the use of the apparent surface charges (ASC) methods in solvation problems: Iterative versus matrix-inversion procedures and the renormalization of the apparent charges. *J Comput Chem* 16:1449–1458.
172. Cancès E, Mennucci B (1998) New applications of integral equations methods for solvation continuum models: ionic solutions and liquid crystals. *J Math Chem* 23:309–326.
173. Cancès E, Mennucci B, Tomasi J (1997) A new integral equation formalism for the polarizable continuum model: Theoretical background and applications to isotropic and anisotropic dielectrics. *J Chem Phys* 107:3032–3041.
174. Mennucci B, Cancès E, Tomasi J (1997) Evaluation of Solvent Effects in Isotropic and Anisotropic Dielectrics and in Ionic Solutions with a Unified Integral Equation Method: Theoretical Bases, Computational Implementation, and Numerical Applications. *J Phys Chem B* 101:10506–10517.
175. Marenich A V, Cramer CJ, Truhlar DG (2009) Universal Solvation Model Based on Solute Electron Density and on a Continuum Model of the Solvent Defined by the Bulk Dielectric Constant and Atomic Surface Tensions. *J Phys Chem B* 113:6378–6396.
176. Mulliken RS (1955) Electronic Population Analysis on LCAO–MO Molecular Wave Functions. I. *J Chem Phys* 23:1833–1840. <https://doi.org/10.1063/1.1740588>
177. Reed AE, Weinstock RB, Weinhold F (1985) Natural population analysis. *J Chem Phys* 83:735–746.
178. Hirshfeld FL (1977) Bonded-atom fragments for describing molecular charge densities. *Theor Chim Acta* 44:129–138.
179. Bader RFW (1990) *Atoms in molecules: a quantum theory*. Oxford: Clarendon press
180. Fonseca Guerra C, Handgraaf J-W, Baerends EJ, Bickelhaupt FM (2004) Voronoi deformation density (VDD) charges: Assessment of the Mulliken, Bader, Hirshfeld, Weinhold, and VDD methods for charge analysis. *J Comput Chem* 25:189–210.

## REFERENCIAS

181. Frisch MJ, Trucks GW, Schlegel HB, et al (2010) Gaussian09 Revision D.01, Gaussian Inc. Wallingford CT. Gaussian 09 Revis. D.01 Gaussian Inc., Wallingford CT
182. Voityuk AA, Stasyuk AJ, Vyboishchikov SF (2018) A simple model for calculating atomic charges in molecules. *Phys Chem Chem Phys* 20:23328–23337.
183. De Proft F, Van Alsenoy C, Peeters A, et al (2002) Atomic charges, dipole moments, and Fukui functions using the Hirshfeld partitioning of the electron density. *J Comput Chem* 23:1198–1209.
184. Politzer P, Laurence PR, Jayasuriya K (1985) Molecular electrostatic potentials: an effective tool for the elucidation of biochemical phenomena. *Environ Health Perspect* 61:191–202.
185. Dapprich S, Komáromi I, Byun KS, et al (1999) A new ONIOM implementation in Gaussian98. Part I. The calculation of energies, gradients, vibrational frequencies and electric field derivatives1Dedicated to Professor Keiji Morokuma in celebration of his 65th birthday. *J Mol Struct THEOCHEM* 461–462:1–21.
186. Hughes JP, Rees S, Kalindjian SB, Philpott KL (2011) Principles of early drug discovery. *Br J Pharmacol* 162:1239–1249.
187. Medina-Franco JL, Fernández-de Gortari E, Naveja JJ (2015) Avances en el diseño de fármacos asistido por computadora. *Educ Química* 26:180–186.
188. Brooijmans N, Kuntz ID (2003) Molecular recognition and docking algorithms. *Annu Rev Biophys Biomol Struct* 32:335–373.  
<https://doi.org/10.1146/annurev.biophys.32.110601.142532>
189. Tao X, Huang Y, Wang C, et al (2020) Recent developments in molecular docking technology applied in food science: a review. *Int J Food Sci Technol* 55:33–45.
190. Fuhrmann J, Rurainski A, Lenhof H-P, Neumann D (2010) A new Lamarckian genetic algorithm for flexible ligand-receptor docking. *J Comput Chem* 31:1911–1918.
191. Morris GM, Goodsell DS, Halliday RS, et al (1998) Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. *J Comput Chem* 19:1639–1662. [https://doi.org/https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-987X\(19981115\)19:14<1639::AID-JCC10>3.0.CO;2-B](https://doi.org/https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-987X(19981115)19:14<1639::AID-JCC10>3.0.CO;2-B)
192. Guedes IA, Pereira FSS, Dardenne LE (2018) Empirical Scoring Functions for Structure-Based Virtual Screening: Applications, Critical Aspects, and Challenges. *Front Pharmacol* 9:1089.
193. Verma J, Khedkar VM, Coutinho EC (2010) 3D-QSAR in drug design--a review. *Curr Top Med Chem* 10:95–115.
194. Kwon S, Bae H, Jo J, Yoon S (2019) Comprehensive ensemble in QSAR prediction for drug discovery. *BMC Bioinformatics* 20:521.
195. Cherkasov A, Muratov EN, Fourches D, et al (2014) QSAR Modeling: Where Have You Been? Where Are You Going To? *J Med Chem* 57:4977–5010.
196. Yola ML (2019) Development of Novel Nanocomposites Based on Graphene/Graphene Oxide and Electrochemical Sensor Applications. *Curr Anal Chem* 15:159–165.
197. Gu H, Tang H, Xiong P, Zhou Z (2019) Biomarkers-based Biosensing and Bioimaging with Graphene for Cancer Diagnosis. *Nanomaterials* 9:130.
198. Kang J, Wei Z, Li J (2019) Graphyne and Its Family: Recent Theoretical Advances. *ACS Appl Mater Interfaces* 11:2692–2706.
199. Yeo J, Jung GS, Martín-Martínez FJ, et al (2019) Multiscale Design of Graphyne-Based Materials for High-Performance Separation Membranes. *Adv Mater* 1805665.
200. Zhang W, Wu L, Li Z, Liu Y (2015) Doped graphene: synthesis, properties and bioanalysis. *RSC Adv* 5:49521–49533.
201. Shin D-W, Kim TS, Yoo J-B (2016) Phosphorus doped graphene by inductively coupled plasma and triphenylphosphine treatments. *Mater Res Bull* 82:71–75.
202. Yadav R, Dixit CK (2017) Synthesis, characterization and prospective applications of

## REFERENCIAS

- nitrogen-doped graphene: A short review. *J Sci Adv Mater Devices* 2:141–149.
203. Agnoli S, Favaro M (2016) Doping graphene with boron: a review of synthesis methods, physicochemical characterization, and emerging applications. *J Mater Chem A* 4:5002–5025.
  204. Sahin H, Leenaerts O, Singh SK, Peeters FM (2015) Graphane. *Wiley Interdiscip Rev Comput Mol Sci* 5:255–272.
  205. Cortés Arriagada D (2013) Global and local reactivity indexes applied to understand the chemistry of graphene oxide and doped graphene. *J Mol Model* 19:919–930.
  206. Saha B, Bhattacharyya PK (2016) Understanding reactivity, aromaticity and absorption spectra of carbon cluster mimic to graphene: a DFT study. *RSC Adv* 6:79768–79780.
  207. Franci MM, Pietro WJ, Hehre WJ, et al (1982) Self-consistent molecular orbital methods. XXIII. A polarization-type basis set for second-row elements. *J Chem Phys* 77:3654–3665.
  208. Barnard AS, Snook IK (2008) Thermal stability of graphene edge structure and graphene nanoflakes. *J Chem Phys* 128:94707.
  209. Silva AM, Pires MS, Freire VN, et al (2010) Graphene Nanoflakes: Thermal Stability, Infrared Signatures, and Potential Applications in the Field of Spintronics and Optical Nanodevices. *J Phys Chem C* 114:17472–17485.
  210. Kuc A, Heine T, Seifert G (2010) Structural and electronic properties of graphene nanoflakes. *Phys Rev B* 81:85430.
  211. Deng J-P, Chen W-H, Chiu S-P, et al (2014) Edge-Termination and Core-Modification Effects of Hexagonal Nanosheet Graphene. *Molecules* 19:2361–2373.  
<https://doi.org/10.3390/molecules19022361>
  212. Becke AD (1993) Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. *J Chem Phys* 98:5648–5652.
  213. Hehre WJ, Lathan WA (1972) Self-Consistent Molecular Orbital Methods. XIV. An Extended Gaussian-Type Basis for Molecular Orbital Studies of Organic Molecules. Inclusion of Second Row Elements. *J Chem Phys* 56:5255–5257.
  214. Loh KP, Bao Q, Eda G, Chhowalla M (2010) Graphene oxide as a chemically tunable platform for optical applications. *Nat Chem* 2:1015–1024.
  215. Zhang C, Dabbs DM, Liu L-M, et al (2015) Combined Effects of Functional Groups, Lattice Defects, and Edges in the Infrared Spectra of Graphene Oxide. *J Phys Chem C* 119:18167–18176.
  216. Pearson RG (1993) The principle of maximum hardness. *Acc Chem Res* 26:250–255.
  217. Peyghan AA, Rastegar SF, Hadipour NL (2014) DFT study of NH<sub>3</sub> adsorption on pristine, Ni- and Si-doped graphynes. *Phys Lett A* 378:2184–2190.
  218. Ketabi N, Tolhurst TM, Leedahl B, et al (2017) How functional groups change the electronic structure of graphdiyne: Theory and experiment. *Carbon N Y* 123:1–6.
  219. Eddy NO, Essien NB (2017) Computational chemistry study of toxicity of some m-tolyl acetate derivatives insecticides and molecular design of structurally related products. *silico Pharmacol* 5:14.
  220. Chana A, Concejero MA, de Frutos M, et al (2002) Computational Studies on Biphenyl Derivatives. Analysis of the Conformational Mobility, Molecular Electrostatic Potential, and Dipole Moment of Chlorinated Biphenyl: Searching for the Rationalization of the Selective Toxicity of Polychlorinated Biphenyls. *Chem Res Toxicol* 15:1514–1526.
  221. Forrest J, Bazylewski P, Bauer R, et al (2014) A comprehensive model for chemical bioavailability and toxicity of organic chemicals based on first principles. *Front. Mar. Sci.* 1:31
  222. Zhao Y-Y, Tao F-M, Zeng EY (2008) Theoretical study of the quantitative structure–activity relationships for the toxicity of dibenzo-p-dioxins. *Chemosphere* 73:86–91.
  223. Lynam MM, Kutty M, Damborsky J, et al (1998) Molecular orbital calculations to describe

## REFERENCIAS

- microbial reductive dechlorination of polychlorinated dioxins. *Environ Toxicol Chem* 17:988–997.
224. Zhang Y, Nayak TR, Hong H, Cai W (2012) Graphene: a versatile nanoplatform for biomedical applications. *Nanoscale* 4:3833–3842.
225. Martínez A, Melendez-Martínez AJ (2016) Lycopene, oxidative cleavage derivatives and antiradical activity. *Comput Theor Chem* 1077:92–98.
226. Reina M, Martínez A (2015) Silybin and 2,3-Dehydrosilybin Flavonolignans as Free Radical Scavengers. *J Phys Chem B* 119:11597–11606.
227. Ardjani TEA, Alvarez-Idaboy JR (2018) Radical scavenging activity of ascorbic acid analogs: kinetics and mechanisms. *Theor Chem Acc* 137.
228. Dao DQ, Ngo TC, Thong NM, Nam PC (2017) Is Vitamin A an Antioxidant or a Pro-oxidant? *J Phys Chem B* 121:9348–9357.
229. Chung HY, Baek BS, Song SH, et al (1997) Xanthine dehydrogenase/xanthine oxidase and oxidative stress. *Age (Omaha)* 20:127–140.
230. Katsumata S, Ikehata N (2001) HeI photoelectron spectroscopic study of vitamin A and its derivatives. *J Electron Spectros Relat Phenomena* 107:139–145.
231. Spartan WI (2008) Spartan 08
232. Ho J, Coote ML (2009) A universal approach for continuum solvent pKa calculations: Are we there yet? *Theor Chem Acc* 125:3–21.
233. Duarte Ramos Matos G, Kyu DY, Loeffler HH, et al (2017) Approaches for Calculating Solvation Free Energies and Enthalpies Demonstrated with an Update of the FreeSolv Database. *J Chem Eng Data* 62:1559–1569.
234. Leo AJ (1993) Calculating log Poct from Structures. *Chem Rev* 93:1281–1306.
235. Ghose AK, Pritchett A, Crippen GM (1988) Atomic physicochemical parameters for three dimensional structure directed quantitative structure-activity relationships III: Modeling hydrophobic interactions. *J Comput Chem* 9:80–90.
236. Martínez A, Vargas R, Galano A (2009) What is important to prevent oxidative stress? A theoretical study on electron-transfer reactions between carotenoids and free radicals. *J Phys Chem B* 113:12113–12120.
237. Enroth C, Eger BT, Okamoto K, et al (2000) Crystal structures of bovine milk xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase: structure-based mechanism of conversion. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97:10723–10728.
238. Morris GM, Huey R, Lindstrom W, et al (2009) AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *J Comput Chem* 30:2785–2791.
239. Cao H, Pauff JM, Hille R (2014) X-ray Crystal Structure of a Xanthine Oxidase Complex with the Flavonoid Inhibitor Quercetin. *J Nat Prod* 77:1693–1699.
240. Kudugunti SK, Vad NM, Whiteside AJ, et al (2010) Biochemical mechanism of caffeic acid phenylethyl ester (CAPE) selective toxicity towards melanoma cell lines. *Chem Biol Interact* 188:1–14.
241. Maggini V, De Leo M, Granchi C, et al (2019) The influence of Echinacea purpurea leaf microbiota on chicoric acid level. *Sci Rep* 9:1–11.
242. Bernabé-Pineda M, Ramírez-Silva MT, Romero-Romo M, et al (2004) Determination of acidity constants of curcumin in aqueous solution and apparent rate constant of its decomposition. *Spectrochim Acta - Part A Mol Biomol Spectrosc* 60:1091–1097.
243. Domingo LR, Aurell MJ, Pérez P, Contreras R (2002) Quantitative characterization of the global electrophilicity power of common diene/dienophile pairs in Diels–Alder reactions. *Tetrahedron* 58:4417–4423.
244. Brossaud J, Pallet V, Corcuff J-B (2017) Vitamin A, endocrine tissues and hormones: interplay and interactions. *Endocr Connect* 6:R121–R130.
245. Esterbauer H, Rotheneder M, Striegl G, et al (1989) Vitamin E and other Lipophilic

## REFERENCIAS

- Antioxidants Protect LDL against Oxidation. *Lipid / Fett* 91:316–324.
246. Romero Y, Martínez A (2015) Antiradical capacity of ommochromes. *J Mol Model* 21:.  
<https://doi.org/10.1007/s00894-015-2773-3>
247. Rajendran P, Nandakumar N, Rengarajan T, et al (2014) Antioxidants and human diseases. *Clin Chim Acta* 436:332–347.
248. Lin H-C, Tsai S-H, Chen C-S, et al (2008) Structure–activity relationship of coumarin derivatives on xanthine oxidase-inhibiting and free radical-scavenging activities. *Biochem Pharmacol* 75:1416–1425.
249. Ramis MR, Esteban S, Miralles A, et al (2015) Protective Effects of Melatonin and Mitochondria-targeted Antioxidants Against Oxidative Stress: A Review. *Curr Med Chem* 22:2690–2711.
250. Galano A, Tan DX, Reiter RJ (2011) Melatonin as a natural ally against oxidative stress: a physicochemical examination. *J Pineal Res* 51:1–16.
251. Hardeland R (2005) Antioxidative protection by melatonin: multiplicity of mechanisms from radical detoxification to radical avoidance. *Endocrine* 27:119–130.
252. Tan D-X, Manchester LC, Terron MP, et al (2007) One molecule, many derivatives: a never-ending interaction of melatonin with reactive oxygen and nitrogen species? *J Pineal Res* 42:28–42.
253. Reina M, Castañeda-Arriaga R, Perez-Gonzalez A, et al (2018) A Computer-Assisted Systematic Search for Melatonin Derivatives with High Potential as Antioxidants. *Melatonin Res* 1:27–58.
254. Castañeda-Arriaga R, Pérez-González A, Reina M, Galano A (2020) Computer-designed melatonin derivatives: potent peroxy radical scavengers with no pro-oxidant behavior. *Theor Chem Acc* 139:133.
255. Cannington PH, Ham NS (1983) He(I) and He(II) photoelectron spectra of glycine and related molecules. *J Electron Spectros Relat Phenomena* 32:139–151.  
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0368-2048\(83\)85092-0](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0368-2048(83)85092-0)
256. Halgren TA (1996) Merck molecular force field. I. Basis, form, scope, parameterization, and performance of MMFF94. *J Comput Chem* 17:490–519.
257. Mahal HS, Sharma HS, Mukherjee T (1999) Antioxidant properties of melatonin: a pulse radiolysis study. *Free Radic Biol Med* 26:557–565.
258. Galano A (2016) A first principles investigation on the electron donor ability of synthetic melatonin derivatives: implications for their antioxidant activity. *Theor Chem Acc* 135:28–33.
259. Johns JR, Platts JA (2014) Theoretical insight into the antioxidant properties of melatonin and derivatives. *Org Biomol Chem* 12:7820–7827.
260. Johns JR, Platts JA (2014) Theoretical insight into the antioxidant properties of melatonin and derivatives. *Org Biomol Chem* 12:7820–7827.
261. Guardiola-Lemaitre B (1997) Toxicology of Melatonin. *J Biol Rhythms* 12:697–706.  
<https://doi.org/10.1177/074873049701200627>
262. Narayanan TN, Biroju RK, Renugopalakrishnan V (2017) Fluorographene: Synthesis and sensing applications. *J Mater Res* 32:2848–2859.
263. Dubecký M, Otyepková E, Lazar P, et al (2015) Reactivity of Fluorographene: A Facile Way toward Graphene Derivatives. *J Phys Chem Lett* 6:1430–1434.
264. Bosch-Navarro C, Walker M, Wilson NR, Rourke JP (2015) Covalent modification of exfoliated fluorographite with nitrogen functionalities. *J Mater Chem C* 3:7627–7631.
265. Stine R, Ciszek JW, Barlow DE, et al (2012) High-Density Amine-Terminated Monolayers Formed on Fluorinated CVD-Grown Graphene. *Langmuir* 28:7957–7961.  
<https://doi.org/10.1021/la301091f>
266. Kang J, Richardson JP, Macmillan D (2009) 3-Mercaptopropionic acid-mediated synthesis

## REFERENCIAS

- of peptide and protein thioesters. *Chem Commun* 407–409.
267. Bosenbecker J, Bareño VDO, Difabio R, et al (2014) Synthesis and Antioxidant Activity of 3-(Pyridin-2-ylmethyl)-1,3-thiazinan(thiazolidin)-4-ones. *J Biochem Mol Toxicol* 28:425–432.

# APÉNDICES

## APÉNDICE A: ESTUDIO DFT DEL GRAFENO Y DERIVADOS DE GRAFENO

**Tabla A1.** Descriptores globales de la reactividad del grafeno y sus derivados en **fase gas** en el nivel de teoría M06-L/6-31G(d). Todas las unidades están en eV, excepto para S (eV<sup>-1</sup>).

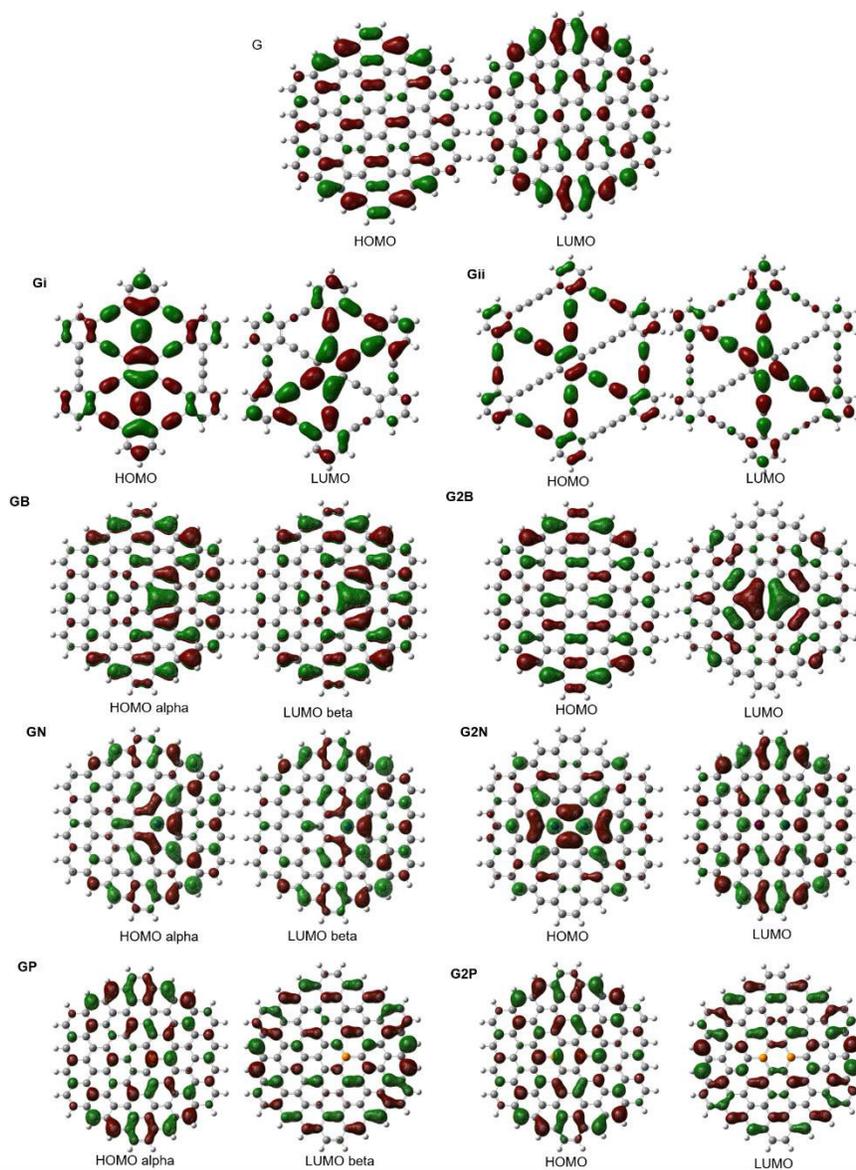
Sistema	<i>I</i>	<i>A</i>	$\chi$	$\omega$	$\omega^-$	$\omega^+$	$\eta$	<i>S</i>	<i>gap</i>	HOMO	LUMO
G	5.40	1.89	3.65	1.89	11.66	4.37	3.51	0.28	1.46	-4.37	-2.92
Gi	5.99	1.91	3.95	1.92	12.12	4.22	4.08	0.25	1.69	-4.78	-3.09
Gii	6.03	2.34	4.18	2.37	14.11	5.75	3.69	0.27	1.76	-5.06	-3.44
G-OH	5.16	2.59	3.88	2.93	15.90	8.14	2.57	0.39	0.38	-4.08	-3.70
G-COOH	5.05	2.45	3.75	2.71	14.92	7.42	2.60	0.39	0.40	-3.96	-3.56
G-O	5.33	2.07	3.70	2.10	12.51	5.11	3.26	0.31	1.18	-4.30	-3.12
G-A	4.19	1.93	3.06	2.07	11.62	5.50	2.26	0.44	1.36	-4.39	-3.02
G-B	5.42	2.03	3.72	2.05	12.33	4.88	3.39	0.29	1.27	-4.38	-3.11
G-C	5.06	2.62	3.84	3.02	16.24	8.56	2.44	0.41	0.15	-3.83	-3.69
G-D	5.44	2.05	3.75	2.07	12.45	4.96	3.39	0.29	1.29	-4.41	-3.13
G-E	5.03	2.65	3.84	3.09	16.49	8.81	2.39	0.42	0.31	-3.99	-3.68
G-F	5.22	2.43	3.82	2.62	14.63	6.99	2.79	0.36	0.03	-0.15	-0.13
GB	5.37	3.02	4.19	3.74	19.45	11.06	2.35	0.43	0.25	-4.33	-4.08
GN	4.26	1.92	3.09	2.04	11.54	5.36	2.34	0.43	0.23	-3.19	-2.96
GP	4.17	1.92	3.04	2.06	11.57	5.48	2.25	0.45	0.12	-3.14	-3.02
G2B	5.29	2.97	4.13	3.67	19.11	10.85	2.32	0.43	0.19	-4.26	-4.07
G2N	4.29	1.99	3.14	2.14	11.99	5.71	2.30	0.43	0.14	-3.15	-3.01
G2P	4.19	2.07	3.13	2.31	12.65	6.39	2.12	0.47	0.07	-3.16	-3.09
G-1H	4.88	2.25	3.56	2.42	13.56	6.43	2.63	0.38	0.42	-3.77	-3.35
G-2H	5.20	2.02	3.61	2.05	12.21	4.99	3.18	0.31	1.08	-4.15	-3.06
G-4H	5.14	2.05	3.59	2.09	12.35	5.16	3.09	0.32	1.02	-4.10	-3.08
G-HR1	5.19	2.01	3.60	2.04	12.15	4.95	3.18	0.31	1.11	-4.15	-3.04
G-HR3	5.57	1.49	3.53	1.53	10.16	3.10	4.08	0.25	2.02	-4.53	-2.51
G-HR5	4.85	2.03	3.44	2.10	12.21	5.32	2.82	0.35	0.86	-3.87	-3.01
G-1F	5.27	2.73	4.00	3.16	16.94	8.94	2.53	0.39	0.34	-4.19	-3.85
G-2F	5.33	2.30	3.81	2.40	13.77	6.15	3.03	0.33	0.90	-4.29	-3.39
G-4F	5.31	2.29	3.80	2.39	13.72	6.12	3.02	0.33	0.95	-4.28	-3.33
G-FR1	5.36	2.22	3.79	2.28	13.31	5.74	3.14	0.32	1.09	-4.33	-3.24
G-FR3	6.14	2.16	4.15	2.16	13.30	5.00	3.98	0.25	1.95	-5.10	-3.15
G-FR5	5.95	3.16	4.56	2.98	19.79	10.68	2.79	0.36	0.84	-4.98	-4.13

## APÉNDICE A

**Tabla A2** Descriptores globales de la reactividad del grafeno y sus derivados en **fase agua** en el nivel de teoría M06-L/6-31G(d). Todas las unidades están en eV, excepto para S (eV<sup>-1</sup>).

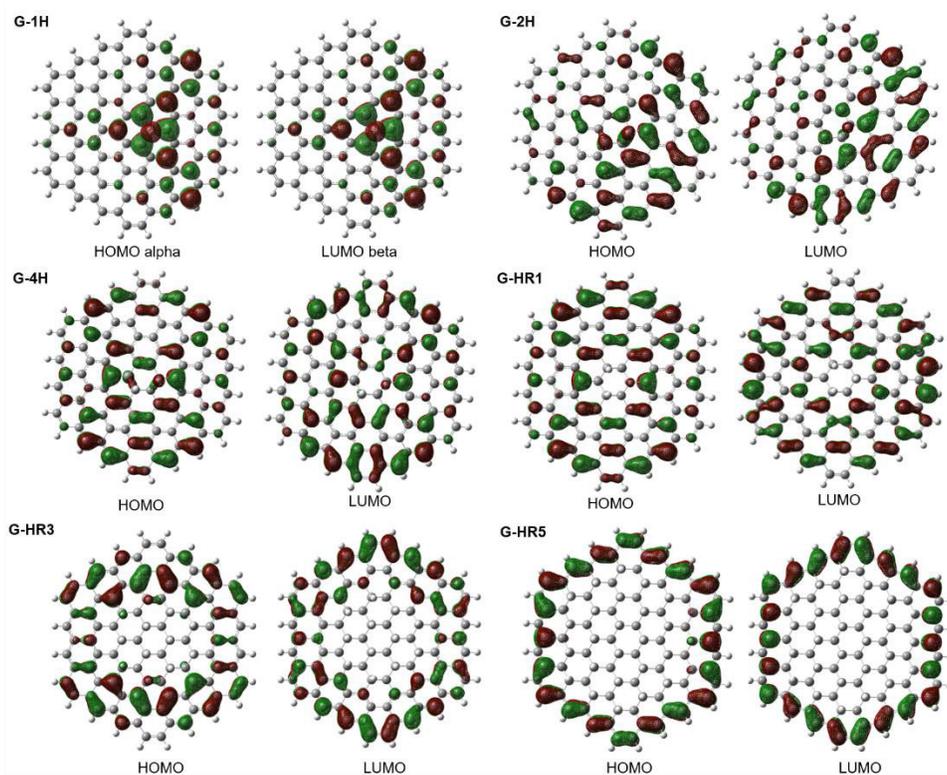
Sistema	<i>I</i>	<i>A</i>	$\chi$	$\omega$	$\omega^-$	$\omega^+$	$\eta$	<i>S</i>	<i>gap</i>	HOMO	LUMO
G	4.61	2.97	3.79	4.38	21.51	13.93	1.64	0.61	1.46	-4.52	-3.06
Gi	5.30	3.30	4.30	4.63	23.08	14.48	2.00	0.50	1.70	-5.14	-3.44
Gii	5.48	3.54	4.51	5.24	25.71	16.69	1.94	0.52	1.75	-5.39	-3.64
G-OH	4.38	3.79	4.08	14.15	60.74	52.57	0.59	1.70	0.36	-4.27	-3.91
G-COOH	4.26	3.64	3.95	12.45	53.84	45.94	0.63	1.60	1.05	-4.15	-3.76
G-O	4.55	3.19	4.08	5.53	26.15	18.41	1.35	0.74	0.11	-3.24	-3.13
G-A	3.31	3.11	3.21	24.94	103.01	96.59	0.21	4.84	1.32	-4.55	-3.23
G-B	4.63	3.15	3.89	5.14	24.62	16.84	1.47	0.68	1.25	-4.53	-3.28
G-C	4.29	3.79	4.04	16.38	69.61	61.53	0.50	2.01	0.30	-4.19	-3.89
G-D	4.67	3.22	3.95	5.38	25.66	17.77	1.45	0.69	1.24	-4.58	-3.34
G-E	4.22	3.74	3.98	16.33	69.36	61.40	0.48	2.06	0.31	-4.13	-3.82
G-F	4.41	3.50	3.95	8.60	38.46	30.56	0.91	1.10	0.03	-0.16	-0.13
GB	3.41	4.19	4.41	23.03	96.60	87.79	0.42	2.37	0.10	-4.27	-3.91
GN	4.62	2.98	3.20	11.78	50.38	43.98	0.43	2.30	0.23	-3.31	-3.08
GP	3.33	2.95	3.14	13.13	55.69	49.41	0.38	2.66	0.12	-3.26	-3.13
G2B	3.44	4.17	4.35	27.14	112.96	104.27	0.35	2.87	0.32	-4.61	-4.29
G2N	4.52	3.05	3.25	13.60	57.68	51.18	0.39	2.58	0.14	-3.28	-3.14
G2P	3.31	3.06	3.19	20.14	83.78	77.40	0.25	3.96	0.07	-3.23	-3.15
G-1H	4.03	3.39	3.71	10.67	46.46	39.03	0.65	1.55	0.42	-3.92	-3.50
G-2H	4.40	3.11	3.75	5.47	25.80	18.30	1.29	0.78	1.09	-4.29	-3.21
G-4H	4.33	3.13	3.73	5.78	26.99	19.53	1.20	0.83	1.02	-4.24	-3.22
G-HR1	4.38	3.08	3.73	5.32	25.17	17.71	1.31	0.76	1.11	-4.28	-3.17
G-HR3	4.73	2.52	3.63	2.97	15.78	8.53	2.21	0.45	2.01	-4.63	-2.62
G-HR5	4.02	3.00	3.51	6.02	27.70	20.68	1.03	0.98	0.86	-3.94	-3.08
G-1F	4.51	3.97	4.24	16.62	70.80	62.32	0.54	1.85	0.31	-4.40	-4.09
G-2F	4.56	3.49	4.02	7.58	34.50	26.45	1.07	0.94	0.84	-4.46	-3.62
G-4F	4.55	3.44	3.99	7.21	32.97	24.98	1.11	0.90	0.91	-4.46	-3.54
G-FR1	4.59	3.34	3.97	6.27	29.21	21.28	1.25	0.80	1.07	-4.50	-3.43
G-FR3	5.35	3.28	4.32	4.49	22.55	13.92	2.07	0.48	1.85	-5.24	-3.39
G-FR5	5.19	4.16	4.68	10.63	47.34	47.34	1.03	0.97	0.84	-5.09	-4.26

## APÉNDICE A



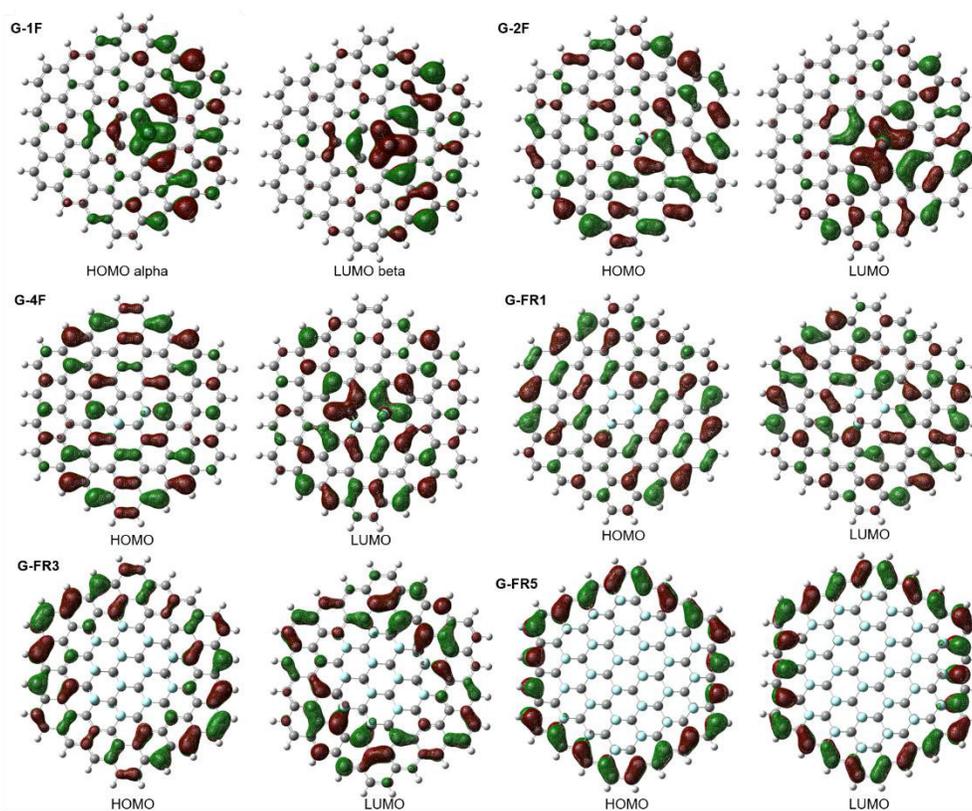
**Figura A1.** Orbitales moleculares para grafeno (G), grafino (Gi), grafidiino (Gii) y grafeno dopado con uno átomo de B, N y P (GB, GN y GP) y dos átomos de B, N y P (G2B, G2N, G2P) en el nivel de teoría M06-L/6-31G(d). El valor de la isosuperficie en cada orbital molecular es de 0.0004 u.a. Las esferas en color gris corresponden a átomos de C, en blanco los átomos de H, en azul átomos de N, en naranja átomos de P y en rosa átomos de B.

## APÉNDICE A



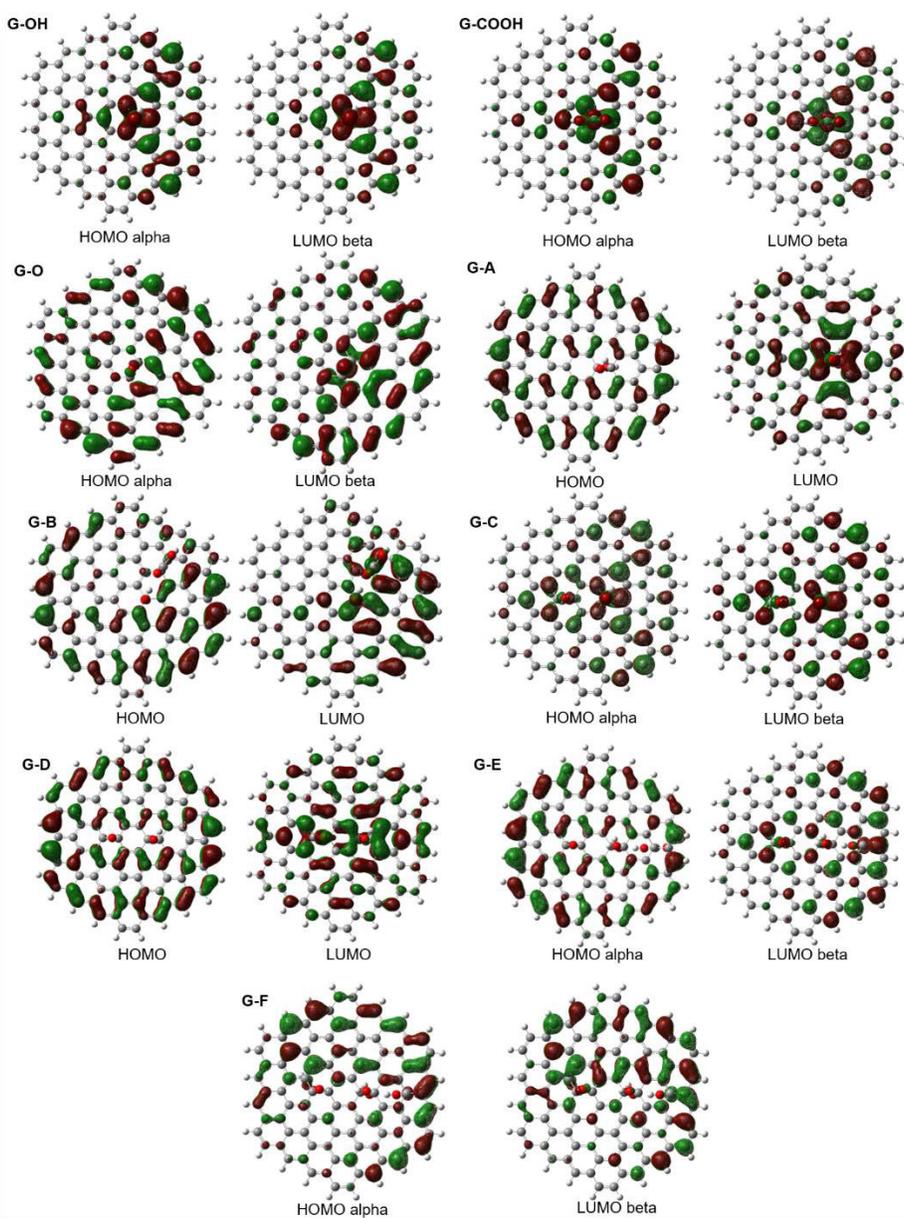
**Figura A2.** Orbitales moleculares para los modelos de grafano en el nivel de teoría M06-L/6-31G(d). El valor de la isosuperficie en cada orbital molecular es de 0.0004 u.a. Las esferas de color gris corresponden a átomos de C y en blanco átomos de H.

## APÉNDICE A



**Figura A3.** Orbitales moleculares para los modelos de fluorografeno en el nivel de teoría M06-L/6-31G(d). El valor de la isosuperficie en cada orbital molecular es de 0.0004 u.a. Las esferas de color gris corresponden a átomos de C, en blanco a los átomos de H y en cian, átomos de F.

## APÉNDICE A



**Figura A4.** Orbitales moleculares para los modelos de óxido de grafeno en el nivel de teoría M06-L/6-31G(d). El valor de la isosuperficie en cada orbital molecular es de 0.0004 u.a. Las esferas en color gris corresponden a átomos de C, en blanco de H y en rojo, átomos de O.

## APÉNDICE B: ANTIOXIDANTES DE PRODUCTOS NATURALES (EXÓGENOS)

**Tabla B1** Energías de Gibbs y disociación de enlace ( $D_0$ ), para la transferencia de átomos de hidrógeno de CDK a radicales libres (RL) con el nivel de teoría M06-2X/6-31+G\*, valores en kcal/mol.

Átomo	$D_0$	$\Delta G$			
		$OH^\bullet$	$CH_3O^\bullet$	$HOO^\bullet$	$NO_2^\bullet$
O7a	87.19	-36.77 <sup>a</sup>	-22.24 <sup>a</sup>	-4.37 <sup>a</sup>	-3.20 <sup>a</sup>
		-33.59 <sup>b</sup>	-18.92 <sup>b</sup>	-0.97 <sup>b</sup>	1.81 <sup>b</sup>
C2	102.24	-17.52 <sup>a</sup>	-0.45 <sup>a</sup>	14.88 <sup>a</sup>	16.05 <sup>a</sup>
		-11.87 <sup>b</sup>	2.46 <sup>b</sup>	20.76 <sup>b</sup>	23.54 <sup>b</sup>
C3	103.86	-6.94 <sup>a</sup>	7.16 <sup>a</sup>	25.46 <sup>a</sup>	26.63 <sup>a</sup>
		-5.84 <sup>b</sup>	7.89 <sup>b</sup>	26.78 <sup>b</sup>	29.57 <sup>b</sup>
C5	99.74	-26.09 <sup>a</sup>	-12.64 <sup>a</sup>	6.31 <sup>a</sup>	7.48 <sup>a</sup>
		-21.49 <sup>b</sup>	-4.89 <sup>b</sup>	11.13 <sup>b</sup>	13.91 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> agua

<sup>b</sup> pentiletanoato

**Tabla B2** Energías de Gibbs y disociación de enlace ( $D_0$ ), para la transferencia de átomos de hidrógeno de CKE a radicales libres (RL) con el nivel de teoría M06-2X/6-31+G\*, valores en kcal/mol. La transferencia de átomos de hidrógeno fue evaluada en agua ( $\Delta G_w$ ) y pentiletanoato ( $\Delta G_p$ ).

Átomo	$D_0$	$\Delta G$			
		$OH^\bullet$	$CH_3O^\bullet$	$HOO^\bullet$	$NO_2^\bullet$
C2	104.71	-9.47 <sup>a</sup>	5.57 <sup>a</sup>	22.93 <sup>a</sup>	24.10 <sup>a</sup>
C3	103.87	--	--	--	--
		-7.26 <sup>a</sup>	6.61 <sup>a</sup>	25.14 <sup>a</sup>	26.31 <sup>a</sup>
O9	109.46	4.46 <sup>b</sup>	17.77 <sup>b</sup>	37.08 <sup>b</sup>	39.86 <sup>b</sup>
		-2.38 <sup>a</sup>	11.25 <sup>a</sup>	30.02 <sup>a</sup>	31.19 <sup>a</sup>
C2a	104.38	0.92 <sup>b</sup>	15.40 <sup>b</sup>	33.55 <sup>b</sup>	36.33 <sup>b</sup>
		-7.26 <sup>a</sup>	6.61 <sup>a</sup>	25.14 <sup>a</sup>	26.31 <sup>a</sup>
C3a	104.62	-5.34 <sup>b</sup>	8.53 <sup>b</sup>	27.29 <sup>b</sup>	30.07 <sup>b</sup>
		-10.81 <sup>a</sup>	5.03 <sup>a</sup>	21.59 <sup>a</sup>	22.76 <sup>a</sup>
C6a	105.18	-10.66 <sup>b</sup>	2.51 <sup>b</sup>	21.96 <sup>b</sup>	24.74 <sup>b</sup>
		-11.79 <sup>a</sup>	2.54 <sup>a</sup>	20.61 <sup>a</sup>	21.78 <sup>a</sup>
O7a	86.48	-8.56 <sup>b</sup>	6.13 <sup>b</sup>	24.06 <sup>b</sup>	26.84 <sup>b</sup>
		-37.36 <sup>a</sup>	-22.24 <sup>a</sup>	-4.96 <sup>a</sup>	-3.79 <sup>a</sup>
O8a	86.21	-34.04 <sup>b</sup>	-19.26 <sup>b</sup>	-1.42 <sup>b</sup>	1.36 <sup>b</sup>
		-37.96 <sup>a</sup>	-22.82 <sup>a</sup>	-5.56 <sup>a</sup>	-4.39 <sup>a</sup>
		-34.51 <sup>b</sup>	-19.79 <sup>b</sup>	-1.89 <sup>b</sup>	0.90 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> agua

<sup>b</sup> pentiletanoato

## APÉNDICE B

**Tabla B3** Energías de Gibbs y disociación de enlace ( $D_0$ ), para la transferencia de átomos de hidrógeno de CAPE a radicales libres (RL) con el nivel de teoría M06-2X/6-31+G\*, valores en kcal/mol.

Átomo	$D_0$	$\Delta G$			
		$OH^\bullet$	$CH_3O^\bullet$	$HOO^\bullet$	$NO_2^\bullet$
C2	104.74	-13.06 <sup>a</sup>	-0.31 <sup>a</sup>	19.34 <sup>a</sup>	20.51 <sup>a</sup>
		-8.99 <sup>b</sup>	5.45 <sup>b</sup>	23.64 <sup>b</sup>	26.42 <sup>b</sup>
C3	105.17	-7.66 <sup>a</sup>	5.10 <sup>a</sup>	24.74 <sup>a</sup>	25.91 <sup>a</sup>
		-3.81 <sup>b</sup>	10.70 <sup>b</sup>	28.82 <sup>b</sup>	31.60 <sup>b</sup>
C6	97.57	-17.29 <sup>a</sup>	-2.57 <sup>a</sup>	15.11 <sup>a</sup>	16.28 <sup>a</sup>
		-14.44 <sup>b</sup>	1.08 <sup>b</sup>	18.18 <sup>b</sup>	20.96 <sup>b</sup>
C7	97.72	-28.43 <sup>a</sup>	-14.49 <sup>a</sup>	3.97 <sup>a</sup>	5.14 <sup>a</sup>
		24.41 <sup>b</sup>	-9.24 <sup>b</sup>	8.21 <sup>b</sup>	10.99 <sup>b</sup>
O7a	81.59	-36.17 <sup>a</sup>	-21.74 <sup>a</sup>	-3.77 <sup>a</sup>	-2.60 <sup>a</sup>
		-35.70 <sup>b</sup>	-20.65 <sup>b</sup>	-3.07 <sup>b</sup>	-0.29 <sup>b</sup>
O8a	87.17	-36.86 <sup>a</sup>	-22.78 <sup>a</sup>	-4.46 <sup>a</sup>	-3.29 <sup>a</sup>
		-32.53 <sup>b</sup>	-17.43 <sup>b</sup>	0.09 <sup>b</sup>	2.88 <sup>b</sup>
C2a	104.98	-4.37 <sup>a</sup>	9.97 <sup>a</sup>	28.03 <sup>a</sup>	29.21 <sup>a</sup>
		-2.51 <sup>b</sup>	12.15 <sup>b</sup>	30.11 <sup>b</sup>	32.90 <sup>b</sup>
C5a	106.98	-3.31 <sup>a</sup>	11.09 <sup>a</sup>	29.09 <sup>a</sup>	30.26 <sup>a</sup>
		-0.94 <sup>b</sup>	13.59 <sup>b</sup>	31.69 <sup>b</sup>	34.47 <sup>b</sup>
C6a	105.52	-4.17 <sup>a</sup>	10.38 <sup>a</sup>	28.23 <sup>a</sup>	29.40 <sup>a</sup>
		-2.04 <sup>b</sup>	12.53 <sup>b</sup>	30.58 <sup>b</sup>	33.37 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> agua

<sup>b</sup> pentiletanoato

## APÉNDICE B

**Tabla B4** Energías de Gibbs y disociación de enlace ( $D_0$ ), para la transferencia de átomos de hidrógeno de CA a radicales libres (RL) con el nivel de teoría M06-2X/6-31+G\*, valores en kcal/mol.

Átomo	$D_0$	$\Delta G$			
		$OH^\bullet$	$CH_3O^\bullet$	$HOO^\bullet$	$NO_2^\bullet$
C2	104.58	-9.93 <sup>a</sup>	5.30 <sup>a</sup>	22.47 <sup>a</sup>	23.64 <sup>a</sup>
		-9.63 <sup>b</sup>	4.06 <sup>b</sup>	22.99 <sup>b</sup>	25.78 <sup>b</sup>
C3	105.09	12.30 <sup>a</sup>	25.31 <sup>a</sup>	44.70 <sup>a</sup>	45.87 <sup>a</sup>
		-3.92 <sup>b</sup>	9.58 <sup>b</sup>	28.70 <sup>b</sup>	9.58 <sup>b</sup>
O9	105.32	3.47 <sup>a</sup>	17.70 <sup>a</sup>	35.87 <sup>a</sup>	37.04 <sup>a</sup>
		-3.06 <sup>b</sup>	10.87 <sup>b</sup>	29.56 <sup>b</sup>	10.87 <sup>b</sup>
C2a	104.36	-4.81 <sup>a</sup>	10.04 <sup>a</sup>	27.59 <sup>a</sup>	28.76 <sup>a</sup>
		-4.01 <sup>b</sup>	9.49 <sup>b</sup>	28.61 <sup>b</sup>	9.49
C3a	105.06	-2.87 <sup>a</sup>	12.20 <sup>a</sup>	29.53 <sup>a</sup>	30.70 <sup>a</sup>
		-2.97 <sup>b</sup>	10.65 <sup>b</sup>	29.65 <sup>b</sup>	10.65 <sup>b</sup>
C6a	102.96	-2.41 <sup>a</sup>	12.59 <sup>a</sup>	29.99 <sup>a</sup>	31.17 <sup>a</sup>
		-3.04 <sup>b</sup>	10.16 <sup>b</sup>	29.59 <sup>b</sup>	10.16 <sup>b</sup>
O7a	83.14	-35.77 <sup>a</sup>	-20.31 <sup>a</sup>	-3.37 <sup>a</sup>	-2.20 <sup>a</sup>
		-37.30 <sup>b</sup>	-24.01 <sup>b</sup>	-4.68 <sup>b</sup>	-24.01 <sup>b</sup>
O8a	84.32	-34.61 <sup>a</sup>	-19.62 <sup>a</sup>	-2.21 <sup>a</sup>	-1.04 <sup>a</sup>
		-34.20 <sup>b</sup>	-19.86 <sup>b</sup>	-1.57 <sup>b</sup>	-19.86 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> agua

<sup>b</sup> pentiletanoato

## APÉNDICE C: ANTIOXIDANTES DERIVADOS DE MELATONINA (ENDÓGENOS)

**Tabla C1** Energías de Gibbs y disociación de enlace ( $D_0$ ), para la transferencia de átomos de hidrógeno de Mel a radicales libres (RL) con el nivel de teoría M06-2X/6-31+G\*, valores en kcal/mol.

Átomo	$D_0$	$\Delta G$			
		$OH^\bullet$	$CH_3O^\bullet$	$HOO^\bullet$	$NO_2^\bullet$
N1	85.73	-29.10 <sup>a</sup> -24.34 <sup>b</sup>	-14.59 <sup>a</sup> -9.29 <sup>b</sup>	3.30 <sup>a</sup> 8.28 <sup>b</sup>	4.47 <sup>a</sup> 11.07 <sup>b</sup>
N2	102.36	-9.99 <sup>a</sup> -6.25 <sup>b</sup>	4.83 <sup>a</sup> 8.41 <sup>b</sup>	22.41 <sup>a</sup> 26.38 <sup>b</sup>	23.58 <sup>a</sup> 19.16 <sup>b</sup>
C7	104.78	-4.31 <sup>a</sup> -2.57 <sup>b</sup>	10.42 <sup>a</sup> 11.86 <sup>b</sup>	28.09 <sup>a</sup> 30.05 <sup>b</sup>	29.26 <sup>a</sup> 32.83 <sup>b</sup>
C8	95.83	-28.31 <sup>a</sup> -25.54 <sup>b</sup>	-14.12 <sup>a</sup> -12.16 <sup>b</sup>	4.09 <sup>a</sup> 7.08 <sup>b</sup>	5.26 <sup>a</sup> 9.87 <sup>b</sup>
C9	96.38	-23.23 <sup>a</sup> -22.03 <sup>b</sup>	-9.58 <sup>a</sup> -8.15 <sup>b</sup>	9.17 <sup>a</sup> 10.59 <sup>b</sup>	10.34 <sup>a</sup> 13.38 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> agua

<sup>b</sup> pentiletanoato

**Tabla C2** Energías de Gibbs y disociación de enlace ( $D_0$ ), para la transferencia de átomos de hidrógeno de AMK a radicales libres (RL) con el nivel de teoría M06-2X/6-31+G\*, valores en kcal/mol.

Átomo	$D_0$	$\Delta G$			
		$OH^\bullet$	$CH_3O^\bullet$	$HOO^\bullet$	$NO_2^\bullet$
N1	96.39	-24.50 <sup>a</sup> -19.58 <sup>b</sup>	-10.09 <sup>a</sup> -5.08 <sup>b</sup>	7.90 <sup>a</sup> 13.04 <sup>b</sup>	16.02 <sup>a</sup> 15.82 <sup>b</sup>
N2	103.89	-9.57 <sup>a</sup> -6.52 <sup>b</sup>	5.87 <sup>a</sup> 7.33 <sup>b</sup>	22.83 <sup>a</sup> 26.11 <sup>b</sup>	29.91 <sup>a</sup> 28.89 <sup>b</sup>
C8	98.29	-27.03 <sup>a</sup> -23.54 <sup>b</sup>	-13.71 <sup>a</sup> -10.29 <sup>b</sup>	5.37 <sup>a</sup> 9.08 <sup>b</sup>	14.57 <sup>a</sup> 11.86 <sup>b</sup>
C9	97.06	-24.57 <sup>a</sup> -21.88 <sup>b</sup>	-10.57 <sup>a</sup> -8.10 <sup>b</sup>	7.83 <sup>a</sup> 10.74 <sup>b</sup>	16.35 <sup>a</sup> 13.53 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> agua

<sup>b</sup> pentiletanoato

## APÉNDICE C

**Tabla C3** Energías de Gibbs y disociación de enlace ( $D_0$ ), para la transferencia de átomos de hidrógeno de AMK a radicales libres (RL) con el nivel de teoría M06-2X/6-31+G\*, valores en kcal/mol.

Átomo	$D_0$	$\Delta G$			
		$OH^\bullet$	$CH_3O^\bullet$	$HOO^\bullet$	$NO_2^\bullet$
N1	105.15	-21.68 <sup>a</sup>	-8.54 <sup>a</sup>	10.72 <sup>a</sup>	11.90 <sup>a</sup>
		-17.56 <sup>b</sup>	-3.64 <sup>b</sup>	15.07 <sup>b</sup>	17.85 <sup>b</sup>
N2	107.67	-11.54 <sup>a</sup>	2.90 <sup>a</sup>	20.86 <sup>a</sup>	22.03 <sup>a</sup>
		-5.84 <sup>b</sup>	8.93 <sup>b</sup>	26.79 <sup>b</sup>	29.57 <sup>b</sup>
C8	94.75	-26.83 <sup>a</sup>	-13.27 <sup>a</sup>	5.57 <sup>a</sup>	6.74 <sup>a</sup>
		-23.30 <sup>b</sup>	-9.20 <sup>b</sup>	9.33 <sup>b</sup>	12.11 <sup>b</sup>
C9	99.00	-24.50 <sup>a</sup>	-11.29 <sup>a</sup>	7.90 <sup>a</sup>	9.07 <sup>a</sup>
		-20.95 <sup>b</sup>	-6.69 <sup>b</sup>	11.67 <sup>b</sup>	14.46 <sup>b</sup>
C12	86.46	-19.43 <sup>a</sup>	-4.91 <sup>a</sup>	12.97 <sup>a</sup>	14.14 <sup>a</sup>
		-21.34 <sup>b</sup>	-8.00 <sup>b</sup>	11.28 <sup>b</sup>	14.07 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> agua

<sup>b</sup> pentiletanoato

**Tabla C4** Energías de Gibbs y disociación de enlace ( $D_0$ ), para la transferencia de átomos de hidrógeno de 6OHM a radicales libres (RL) con el nivel de teoría M06-2X/6-31+G\*, valores en kcal/mol.

Átomo	$D_0$	$\Delta G$			
		$OH^\bullet$	$CH_3O^\bullet$	$HOO^\bullet$	$NO_2^\bullet$
N1	102.59	-31.35 <sup>a</sup>	-16.64 <sup>a</sup>	1.05 <sup>a</sup>	8.86 <sup>a</sup>
		-26.98 <sup>b</sup>	-12.08 <sup>b</sup>	5.70 <sup>b</sup>	8.43 <sup>b</sup>
N2	102.62	-10.83 <sup>a</sup>	3.43 <sup>a</sup>	21.57 <sup>a</sup>	29.82 <sup>a</sup>
		-7.12 <sup>b</sup>	7.08 <sup>b</sup>	25.56 <sup>b</sup>	28.28 <sup>b</sup>
C4	104.14	-5.45 <sup>a</sup>	9.01 <sup>a</sup>	26.95 <sup>a</sup>	35.00 <sup>a</sup>
		-2.67 <sup>b</sup>	12.06 <sup>b</sup>	30.01 <sup>b</sup>	32.74 <sup>b</sup>
C7	105.56	5.40 <sup>a</sup>	20.06 <sup>a</sup>	37.80 <sup>a</sup>	45.67 <sup>a</sup>
		-0.08 <sup>b</sup>	14.55 <sup>b</sup>	32.60 <sup>b</sup>	35.32 <sup>b</sup>
C8	95.28	-23.85 <sup>a</sup>	-10.89 <sup>a</sup>	8.55 <sup>a</sup>	18.10 <sup>a</sup>
		-22.25 <sup>b</sup>	-8.41 <sup>b</sup>	10.43 <sup>b</sup>	13.16 <sup>b</sup>
C9	95.28	-23.85 <sup>a</sup>	-10.89 <sup>a</sup>	8.55 <sup>a</sup>	18.10 <sup>a</sup>
		-22.25 <sup>b</sup>	-8.41 <sup>b</sup>	10.43 <sup>b</sup>	13.16 <sup>b</sup>
O13	84.32	-42.46 <sup>a</sup>	-28.10 <sup>a</sup>	-10.06 <sup>a</sup>	-1.90 <sup>a</sup>
		-35.98 <sup>b</sup>	-20.64 <sup>b</sup>	-3.30 <sup>b</sup>	-0.58 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> agua

<sup>b</sup> pentiletanoato

## APÉNDICE C

**Tabla C5** Energías de Gibbs y disociación de enlace ( $D_0$ ), para la transferencia de átomos de hidrógeno de Ir a radicales libres (RL) con el nivel de teoría M06-2X/6-31+G\*, valores en kcal/mol.

Átomo	$D_0$	$\Delta G$			
		$OH^\bullet$	$CH_3O^\bullet$	$HOO^\bullet$	$NO_2^\bullet$
N1	66.92	-41.49 <sup>a</sup>	-26.58 <sup>a</sup>	-9.09 <sup>a</sup>	-7.92 <sup>a</sup>
		-47.41 <sup>b</sup>	-31.26 <sup>b</sup>	-14.79 <sup>b</sup>	-12.01 <sup>b</sup>
O5	67.76	-40.70 <sup>a</sup>	-25.79 <sup>a</sup>	-8.30 <sup>a</sup>	-7.13 <sup>a</sup>
		-47.41 <sup>b</sup>	-33.80 <sup>b</sup>	-16.07 <sup>b</sup>	-13.29 <sup>b</sup>
C4	92.63	-14.54 <sup>a</sup>	0.23 <sup>a</sup>	17.86 <sup>a</sup>	19.04 <sup>a</sup>
		-23.06 <sup>b</sup>	-8.11 <sup>b</sup>	9.56 <sup>b</sup>	12.35 <sup>b</sup>
C6	108.97	-5.04 <sup>a</sup>	11.63 <sup>a</sup>	27.36 <sup>a</sup>	28.53 <sup>a</sup>
		-10.11 <sup>b</sup>	5.86 <sup>b</sup>	22.51 <sup>b</sup>	25.29 <sup>b</sup>
C9	103.99	-4.41 <sup>a</sup>	10.33 <sup>a</sup>	27.99 <sup>a</sup>	29.16 <sup>a</sup>
		-12.51 <sup>b</sup>	1.94 <sup>b</sup>	20.11 <sup>b</sup>	22.90 <sup>b</sup>
C10	103.48	-5.01 <sup>a</sup>	10.23 <sup>a</sup>	27.39 <sup>a</sup>	28.56 <sup>a</sup>
		-12.97 <sup>b</sup>	1.79 <sup>b</sup>	19.66 <sup>b</sup>	22.44 <sup>b</sup>
C11	103.80	9.54 <sup>a</sup>	25.05 <sup>a</sup>	41.94 <sup>a</sup>	43.11 <sup>a</sup>
		-11.39 <sup>b</sup>	3.54 <sup>b</sup>	21.23 <sup>b</sup>	24.02 <sup>b</sup>
C13	84.94	-22.46 <sup>a</sup>	-7.99 <sup>a</sup>	9.94 <sup>a</sup>	11.11 <sup>a</sup>
		-29.72 <sup>b</sup>	-14.22 <sup>b</sup>	2.90 <sup>b</sup>	5.69 <sup>b</sup>
Ca	103.26	7.58 <sup>a</sup>	22.89 <sup>a</sup>	39.98 <sup>a</sup>	41.16 <sup>a</sup>
		-12.82 <sup>b</sup>	1.33 <sup>b</sup>	19.80 <sup>b</sup>	22.59 <sup>b</sup>
Cb	102.36	-6.16 <sup>a</sup>	8.48 <sup>a</sup>	26.24 <sup>a</sup>	27.41 <sup>a</sup>
		-13.08 <sup>b</sup>	2.14 <sup>b</sup>	19.55 <sup>b</sup>	22.33 <sup>b</sup>
Cc	104.34	-4.53 <sup>a</sup>	10.27 <sup>a</sup>	27.87 <sup>a</sup>	29.04 <sup>a</sup>
		-11.95 <sup>b</sup>	2.92 <sup>b</sup>	20.68 <sup>b</sup>	23.46 <sup>b</sup>
Cd	102.53	-6.20 <sup>a</sup>	8.61 <sup>a</sup>	26.20 <sup>a</sup>	27.37 <sup>a</sup>
		-13.54 <sup>b</sup>	1.46 <sup>b</sup>	19.09 <sup>b</sup>	21.87 <sup>b</sup>
Ce	103.97	9.07 <sup>a</sup>	22.99 <sup>a</sup>	41.47 <sup>a</sup>	42.64 <sup>a</sup>
		-12.31 <sup>b</sup>	2.35 <sup>b</sup>	20.31 <sup>b</sup>	23.10 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> agua

<sup>b</sup> pentiletanoato

## APÉNDICE C

**Table C6** Energías de Gibbs y disociación de enlace ( $D_0$ ), para la transferencia de átomos de hidrógeno de It a radicales libres (RL) con el nivel de teoría M06-2X/6-31+G\*, valores en kcal/mol.

Átomo	$D_0$	$\Delta G$			
		$OH^\bullet$	$CH_3O^\bullet$	$HOO^\bullet$	$NO_2^\bullet$
N1	64.11	-45.97 <sup>a</sup> -1.71 <sup>b</sup>	-31.34 <sup>a</sup> 13.81 <sup>b</sup>	-13.57 <sup>a</sup> 30.91 <sup>b</sup>	-12.39 <sup>a</sup> 33.70 <sup>b</sup>
O5	67.16	-40.86 -40.64 <sup>b</sup>	-25.47 <sup>a</sup> -25.19 <sup>b</sup>	-8.46 <sup>a</sup> -8.02 <sup>b</sup>	-7.29 <sup>a</sup> -5.24 <sup>b</sup>
C4	90.24	-18.68 <sup>a</sup> -18.04 <sup>b</sup>	-4.30 <sup>a</sup> -3.47 <sup>b</sup>	13.72 <sup>a</sup> 14.58 <sup>b</sup>	14.89 <sup>a</sup> 17.37 <sup>b</sup>
C6	109.58	-4.37 <sup>a</sup> -1.37 <sup>b</sup>	10.82 <sup>a</sup> 13.88 <sup>b</sup>	28.03 <sup>a</sup> 31.26 <sup>b</sup>	29.20 <sup>a</sup> 34.04 <sup>b</sup>
C9	103.58	-4.66 <sup>a</sup> -4.04 <sup>b</sup>	10.67 <sup>a</sup> 11.16 <sup>b</sup>	27.74 <sup>a</sup> 28.58 <sup>b</sup>	28.92 <sup>a</sup> 31.36 <sup>b</sup>
C10	102.79	-5.70 <sup>a</sup> -5.02 <sup>b</sup>	9.67 <sup>a</sup> 10.19 <sup>b</sup>	26.70 <sup>a</sup> 27.60 <sup>b</sup>	27.87 <sup>a</sup> 30.39 <sup>b</sup>
C11	103.66	-4.17 <sup>a</sup> -3.46 <sup>b</sup>	10.78 <sup>a</sup> 11.83 <sup>b</sup>	28.23 <sup>a</sup> 29.16 <sup>b</sup>	29.40 <sup>a</sup> 31.95 <sup>b</sup>
C13	84.90	-22.29 <sup>a</sup> -22.20 <sup>b</sup>	-6.95 <sup>a</sup> -6.80 <sup>b</sup>	10.11 <sup>a</sup> 10.42 <sup>b</sup>	11.28 <sup>a</sup> 13.20 <sup>b</sup>
Cb	105.07	-3.04 <sup>a</sup> -2.19 <sup>b</sup>	12.12 <sup>a</sup> 13.04 <sup>b</sup>	29.36 <sup>a</sup> 30.44 <sup>b</sup>	30.53 <sup>a</sup> 33.22 <sup>b</sup>
Cc	102.93	-4.60 <sup>a</sup> -4.24 <sup>b</sup>	10.92 <sup>a</sup> 10.85 <sup>b</sup>	27.80 <sup>a</sup> 28.39 <sup>b</sup>	28.98 <sup>a</sup> 31.17 <sup>b</sup>
Cd	103.10	-5.08 <sup>a</sup> -4.33 <sup>b</sup>	10.08 <sup>a</sup> 10.87 <sup>b</sup>	27.32 <sup>a</sup> 28.30 <sup>b</sup>	28.49 <sup>a</sup> 31.08 <sup>b</sup>
Ce	103.47	-4.24 <sup>a</sup> -3.77 <sup>b</sup>	11.14 <sup>a</sup> 11.51 <sup>b</sup>	28.16 <sup>a</sup> 28.85 <sup>b</sup>	29.34 <sup>a</sup> 31.63 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> agua

<sup>b</sup> pentiletanoato

# APÉNDICE D: PRESENTACIONES DEL TRABAJO EN CONGRESOS

## Presentaciones Orales

- **Brenda Manzanilla Viveros**, Juvencio Robles García. *Mecanismos de acción de algunas moléculas antirradicales: endógenas y exógenas*, XVI Reunión Mexicana de Fisicoquímica Teórica, UAEM, Toluca, Edo. Méx., 25 de octubre de 2019.
- Juvencio Robles García, **Brenda Manzanilla-Viveros**. *Estudio teórico DFT de grafeno y derivados dopados y funcionalizados*. 53° Congreso Mexicano de Química, Cd. De México, México, 2-5 de octubre de 2018.

## Presentación de Carteles

- **Brenda Manzanilla Viveros**, Juvencio Robles García. *DFT study of graphene and derivatives flakes*, #LatinXChem Twitter Conference, 7 de septiembre de 2020. <https://twitter.com/BrendaManzani16/status/1302937327644409866?s=20>
- **Brenda Manzanilla Viveros**, Juvencio Robles García. *Estudio DFT de la reactividad de grafeno y sus derivados: grafrano, fluorografeno, grafeno dopado y óxido de grafeno*, XVII Reunión Mexicana de Fisicoquímica Teórica, Tecnológico de Monterrey, Cd. De Monterrey, N. L., 22-24 de noviembre de 2018.
- **Brenda Manzanilla Viveros**, Juvencio Robles García. *Estudio teórico y computacional de la estabilidad y reactividad de grafeno y derivados*. XVI Reunión Mexicana de Fisicoquímica Teórica, BUAP, Puebla, Puebla, 16-18 de noviembre de 2017.

## APÉNDICE E: ARTÍCULOS PUBLICADOS Y EN PROGRESO

- **Manzanilla, B.;** Robles, J., *Conceptual DFT reactivity descriptors computational study of graphene and derivatives flakes: doped graphene, graphane, fluorographene, graphene oxide, graphyne, and graphdiyne*, J. Mex. Chem. Soc., 64(3), 2020, <https://doi.org/10.29356/jmcs.v64i3.1167>
- **Manzanilla, B.;** Robles, J., *Estudios teórico-computacionales sobre las interacciones entre moléculas antioxidantes y grafeno y sus nuevos derivados*, Revista Naturaleza y Tecnología, Universidad de Guanajuato, 2018, ISSN: 2007-672X.
- **Manzanilla, B.;** Robles, J. *Antiradical properties of curcumin, caffeic acid phenethyl ester, and chicoric acid: A DFT study*, en proceso.
- **Manzanilla, B.;** Robles, J. *DFT and molecular docking studies of melatonin and analogues with xanthine oxidase as an antioxidant mechanism*, en proceso.
- **Manzanilla, B.;** Robles, J. *Graphene oxide and fluorographene as antioxidant carriers: A DFT study in ONIOM*, en proceso.

## APÉNDICE F: OTRAS ACTIVIDADES

- Auxiliar académico del Dr. Juvencio Robles en la UDA NELI04053 de Química Cuántica de la Licenciatura en Química en la Universidad de Guanajuato, Capus Guanajuato desde el 2017 al 2020.