

# Universidad Católica de Santa María

Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y  
Biotecnológicas

Escuela Profesional de Ingeniería Biotecnológica



## EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS FLAVONOIDES PRESENTES EN LAS HOJAS DE *Annona muricata* (GUANÁBANA) MEDIANTE QUÍMICA COMPUTACIONAL

Tesis presentada por la Bachiller

**Manrique De La Cuba, Maria Fernanda**

para optar el Título Profesional de:

Ingeniera Biotecnóloga.

Asesor: Dr. Gómez Valdez, Badhin

*Arequipa – Perú*  
*2018*

UNIVERSIDAD CATOLICA SANTA MARIA  
Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas  
y Biotecnológicas  
Escuela Profesional de Ingeniería Biotecnológica

Expediente N°. 16029880  
N° Trámite en Fac. 298-2016  
Fecha Recep. Fac. 25-07-2016

FORMATO UNICO PARA TRAMITACIÓN DE TÍTULO PROFESIONAL

DE: **MANRIQUE DE LA CUBA, María Fernanda**



PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO BIOTECNOLOGO

**"DETERMINACION DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE FLAVONOLES TRIGLICOSIDICOS PRESENTES EN LAS HOJAS DE *Annona muricata* (Guanábana) MEDIANTE EL USO DE METODOLOGIA QM-ORSA"**

DICTAMINADORES: 1) *Dr. Jaime Cárdenas García* 2) *Ing. Cinthia Córdova Barrios*

**DICTAMEN DE PLAN:** Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación, el Jurado Dictaminador del Plan de Tesis informa que, hechas las observaciones y subsanadas las correcciones, consideramos se encuentra APTO para continuar con el trámite de acuerdo al Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad

Atentamente

FIRMAS:   (Devolver antes de 8 días hábiles) FECHA 04-08-16

ASESOR: *Dr. Badhín Gómez Valdez*

**DICTAMEN ASESORÍA:**

Habiendo realizado el manuscrito y culminado la investigación, pongo a disposición de los jurados el borrador de tesis **EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS FLAVONOIDES PRESENTES EN LAS HOJAS DE *ANNONA MURICATA* (GUANÁBANA) MEDIANTE QUÍMICA COMPUTACIONAL**; ante su despacho.

FIRMA

FECHA 30-04-18

**DICTAMINADORES BORRADOR DE TESIS:**

- 1) *Dr. José Villanueva Salas* 3) *Ing. Cinthia Córdova Barrios*  
2) *Dr. Jaime Cárdenas García*

**DICTAMEN FINAL:**

Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, atendiendo a su designación como Dictaminadores del presente Borrador de Tesis y luego de hechas las observaciones y correcciones pertinentes, cumpliendo con las exigencias mínimas establecidas para un trabajo de investigación de Tesis profesional, es que consideramos APTO para continuar con los trámites estipulados en el Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad.

Atentamente

FIRMA

(Devolver antes de 15 días hábiles) FECHA 22/5/18

JURADOS: PRESIDENTE  
VOCAL  
SECRETARIO

FECHA

08/06/18

HORA

19.00

LOCAL

SUM C-402

FIRMA DEL DECANO

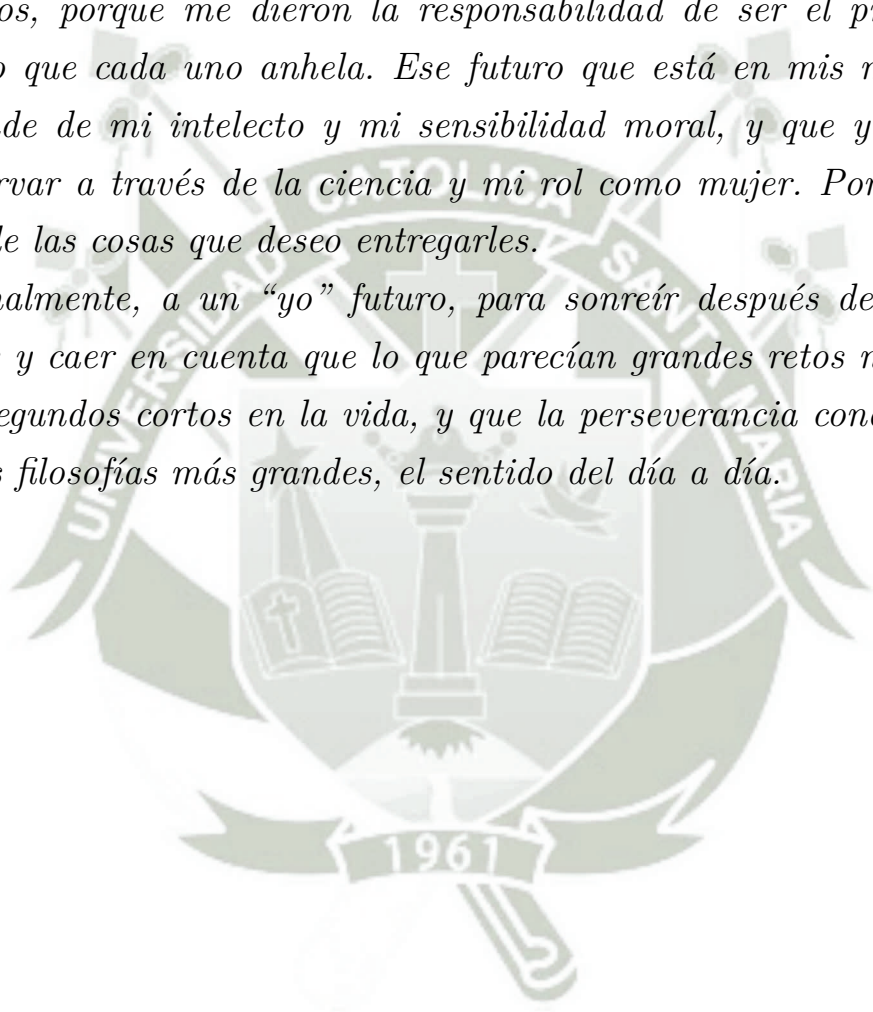
FECHA

23/07/18

## Dedicatoria

*A mi madre y mi padre, siempre pacientes, nobles e incondicionales. A ellos, porque me dieron la responsabilidad de ser el presente del futuro que cada uno anhela. Ese futuro que está en mis manos, que depende de mi intelecto y mi sensibilidad moral, y que yo habré de preservar a través de la ciencia y mi rol como mujer. Porque esa es una de las cosas que deseo entregarles.*

*Finalmente, a un “yo” futuro, para sonreír después de leer estas líneas y caer en cuenta que lo que parecían grandes retos no son más que segundos cortos en la vida, y que la perseverancia conduce a una de las filosofías más grandes, el sentido del día a día.*



## Agradecimientos

A la Universidad Católica de Santa María y a mis profesores por haber forjado en mí los conocimientos requeridos para desenvolverme como profesional.

Al Vicerrectorado de Investigación de mi universidad por el financiamiento brindado al proyecto de investigación dentro del cual logré desarrollar la presente tesis.

Al Centro de Investigación en Ingeniería Molecular (CIIM) por darme todo su apoyo. En especial a mi profesor, asesor y amigo, el Dr. Badhín Gómez Valdez, por brindarme la oportunidad de formar parte de este gran grupo de investigadores, por todo su esfuerzo en enseñarme y escucharme con actitud siempre entusiasta.

A mis familiares por incentivar me de la forma que cada uno lo hace y creer en mí. En especial a mis padres, que me han dado siempre las mejores oportunidades y alientos.

A Wilbert Calizaya, que considero como un miembro de mi familia y una persona ejemplar. Por todos sus consejos, su atención y su ayuda. Siempre ha tenido palabras que han hecho que reflexione acerca de mis ideas, pensamientos y emociones.

A Jerónimo Lira, por su compañía y sus explicaciones. Nos conocimos bajo circunstancias de la tesis y ahora cumplimos una de nuestras metas juntos. Todos esos diversos debates e ideales en común han logrado reforzar mi pasión por la ciencia.

Finalmente, a “*Tomorrowland*”, mis amigos más cercanos durante esta etapa de mi vida. Hemos tenido la oportunidad de marcar juntos nuestras metas, de descubrirnos y motivarnos. Me siento feliz de tenerlos, ellos impulsan mi alegría en medio de la rutina.

# Contenido

Contenido	III
Índice de Figuras	VIII
Índice de Tablas	XVIII
Glosario	XX
Dedicatoria	XXII
Agradecimientos	XXIII
Resumen	XXIV
Abstract	XXVI
<b>1 Introducción</b>	<b>1</b>
Objetivos	3
Hipótesis	4
<b>2 Marco Teórico</b>	<b>5</b>
2.1 Radicales libres . . . . .	5
2.1.1 Descripción . . . . .	5
2.1.2 Estrés oxidativo . . . . .	5
2.1.3 Especies radicalarias . . . . .	6
2.2 Antioxidantes . . . . .	7
2.2.1 Descripción . . . . .	7

2.2.2	Clasificación según su procedencia . . . . .	7
2.2.2.1	Endógenos . . . . .	7
2.2.2.2	Exógenos . . . . .	7
2.2.3	Mecanismos de reacción . . . . .	8
2.2.3.1	De un único paso . . . . .	8
2.2.3.2	De múltiples pasos . . . . .	9
2.2.4	Determinación de su actividad . . . . .	10
2.2.5	Terapia antioxidante . . . . .	11
2.3	<i>Annona muricata</i> . . . . .	11
2.3.1	Descripción . . . . .	11
2.3.2	Producción . . . . .	11
2.3.3	Propiedades . . . . .	12
2.3.4	Compuestos bioactivos . . . . .	12
2.4	Flavonoides . . . . .	13
2.4.1	Descripción . . . . .	13
2.4.2	Estructura . . . . .	13
2.4.3	Clasificación . . . . .	13
2.4.4	Glicósidos de flavonoides . . . . .	14
2.4.5	Bioactividad . . . . .	15
2.5	Química computacional . . . . .	16
2.5.1	Mecánica cuántica . . . . .	16
2.5.1.1	Descripción . . . . .	16
2.5.1.2	Energía de un sistema . . . . .	17
2.5.1.3	Sistemas estacionarios . . . . .	17
2.5.2	Métodos computacionales . . . . .	19
2.5.3	Método Teoría Funcional de la Densidad ( <i>DFT</i> ) . . . . .	20
2.5.3.1	Descripción . . . . .	20
2.5.3.2	Densidad electrónica . . . . .	20
2.5.4	Optimización de sistemas moleculares . . . . .	21
2.5.4.1	Estados estacionarios . . . . .	21
2.5.4.2	Funcionales . . . . .	22
2.5.4.3	Funciones de base . . . . .	22

2.5.4.4	Optimización . . . . .	23
2.5.4.5	Superficie de energía potencial ( <i>PES</i> ) . . . . .	23
2.5.4.6	Frecuencias vibracionales . . . . .	25
2.5.4.7	Efectos de solvatación . . . . .	25
2.5.5	Modelos <i>QSAR</i> . . . . .	26
2.5.5.1	Propiedades de Reactividad intrínseca . . . . .	26
2.5.5.2	Índices de reactividad química global . . . . .	29
2.5.5.3	Densidad de Espín . . . . .	31
2.5.6	Ventajas de la química computacional . . . . .	31
2.6	Análisis de Correlación lineal simple de Pearson . . . . .	32
<b>3</b>	<b>Metodología</b>	<b>33</b>
3.1	Detalles Computacionales . . . . .	33
3.2	Métodos . . . . .	33
3.2.1	Generación de geometrías moleculares de partida . . . . .	33
3.2.2	Optimización de las estructuras iniciales . . . . .	34
3.2.3	Optimización de las estructuras iónicas y radicalarias . . . . .	35
3.2.4	Evaluación de propiedades de reactividad intrínseca . . . . .	38
3.2.5	Correlación de las propiedades calculadas con porcentajes de actividad antioxidante reportados experimentalmente . . . . .	39
3.2.6	Evaluación de índices de reactividad global . . . . .	39
3.2.7	Evaluación del enlace de hidrógeno intramolecular en el sitio activo . . . . .	39
3.2.8	Evaluación de la distribución de densidad de espín . . . . .	39
<b>4</b>	<b>Resultados y Discusión</b>	<b>41</b>
4.1	Generación de geometrías moleculares de partida . . . . .	41
4.2	Optimización de las estructuras iniciales . . . . .	41
4.3	Optimización de las estructuras iónicas y radicalarias . . . . .	42
4.4	Evaluación de propiedades de reactividad intrínseca . . . . .	43
4.5	Correlación de las propiedades calculadas con porcentajes de actividad antioxidante reportados experimentalmente . . . . .	58
4.6	Evaluación de índices de reactividad global . . . . .	61

4.7	Evaluación del enlace de hidrógeno intramolecular en el sitio activo . . . . .	63
4.8	Evaluación de la distribución de la densidad de espín . . . . .	66
<b>Conclusiones</b>		<b>75</b>
<b>Recomendaciones</b>		<b>77</b>
<b>Referencias Bibliográficas</b>		<b>78</b>
<b>Anexos</b>		<b>90</b>
<b>A Estructuras optimizadas</b>		<b>91</b>
A.1	Estructuras iniciales en fase gas . . . . .	92
A.2	Estructuras iniciales en fase acuosa . . . . .	95
A.3	Estructuras radicalarias neutras en fase gas . . . . .	98
A.4	Estructuras radicalarias neutras en fase acuosa . . . . .	114
A.5	Estructuras radicalarias catiónicas en fase gas . . . . .	130
A.6	Estructuras radicalarias catiónicas en solvente . . . . .	133
A.7	Estructuras radicalarias aniónicas en fase gas . . . . .	136
A.8	Estructuras radicalarias aniónicas en solvente . . . . .	139
A.9	Estructuras aniónicas en fase gas . . . . .	142
A.10	Estructuras aniónicas en fase acuosa . . . . .	145
A.11	Estructuras del Trolox en fase gas . . . . .	148
A.12	Estructuras del Trolox en fase acuosa . . . . .	149
<b>B Distribución de la densidad de espín</b>		<b>150</b>
B.1	Estructuras radicalarias neutras en fase acuosa . . . . .	151
B.2	Estructuras radicalarias catiónicas en solvente . . . . .	154
<b>C Regiones con mayor densidad de espín</b>		<b>157</b>
C.1	Estructuras radicalarias neutras en fase gas . . . . .	158
C.2	Estructuras radicalarias neutras en fase acuosa . . . . .	161
C.3	Estructuras radicalarias catiónicas en fase gas . . . . .	164
C.4	Estructuras radicalarias catiónicas en solvente . . . . .	167
C.5	Estructuras radicalarias del Trolox . . . . .	170



# Índice de Figuras

Figura 2.1	Peroxidación lipídica generada por el ataque de radicales libres.	6
Figura 2.2	Hojas y frutos de <i>Annona muricata</i> (Guanábana)	12
Figura 2.3	Esqueleto común de la estructura molecular de los flavonoides	13
Figura 2.4	Clasificación de los flavonoides según su estructura	14
Figura 2.5	Flavonoides glicosilados. A) O-glicósido B) C-glicósido	15
Figura 2.6	Segmento de una <i>PES</i>	24
Figura 2.7	Estados de energía en una <i>PES</i>	24
Figura 2.8	Estados vibracionales en un pozo de potencial	26
Figura 2.9	Gráfico <i>FEDAM</i>	29
Figura 3.1	Estructuras químicas de los flavanoles y flavanonoles presentes en las hojas de <i>A. muricata</i>	34
Figura 3.2	Estructuras químicas de los flavonoles presentes en las hojas de <i>A. muricata</i>	35
Figura 3.3	Estructuras químicas de los flavonoles glicosilados presentes en las hojas de <i>A. muricata</i>	36
Figura 3.4	Estructuras químicas de las flavonas glicosiladas presentes en las hojas de <i>A. muricata</i>	37
Figura 3.5	Estructuras químicas de las flavonas e isoflavonas presentes en las hojas de <i>A. muricata</i>	38
Figura 3.6	Estructura química del Trolox	38
Figura 4.1	Estructuras químicas y <i>BDE</i> de los grupos OH de algunos flavonoides representativos de cada clase	45
Figura 4.2	Variación de los <i>BDE</i> de fase gas a fase acuosa	49
Figura 4.3	<i>FEDAM</i> de los flavonoides en fase gas	51

Figura 4.4	<i>FEDAM</i> de los flavonoides en fase acuosa . . . . .	52
Figura 4.5	Variación de los <i>IE</i> de fase gas a fase acuosa . . . . .	53
Figura 4.6	Variación de los <i>PDE</i> de fase gas a fase acuosa . . . . .	54
Figura 4.7	Variación de los <i>PA</i> de fase gas a fase acuosa . . . . .	56
Figura 4.8	Variación de los <i>ETE</i> de fase gas a fase acuosa . . . . .	56
Figura 4.9	Correlación de los <i>BDE</i> calculados con algunos %AA experi- mentales reportados . . . . .	59
Figura 4.10	Correlación de los <i>ETE</i> calculados con algunos %AA experi- mentales reportados . . . . .	60
Figura 4.11	Correlación de los <i>IE</i> calculados con algunos %AA experimen- tales reportados . . . . .	61
Figura 4.12	Longitud del enlace de hidrógeno intramolecular en el sitio activo de algunos flavonoides representativos en fase acuosa . . . . .	63
Figura 4.13	Correlación entre la reducción de la longitud del enlace de hidrógeno intramolecular en el sitio activo con los <i>BDE</i> calculados . .	65
Figura 4.14	Distribución de la densidad de espín de algunos flavonoides radicalarios neutros en fase acuosa . . . . .	68
Figura 4.15	Distribución de la densidad de espín de algunos flavonoides radicalarios catiónicos en fase acuosa . . . . .	70
Figura 4.16	Estructuras resonantes de un flavonol radicalario catiónico simple	71
Figura A.1	Estructuras iniciales optimizadas en fase gas. Flavonoides: A) Catequina. B) Epicatequina. C) Gallocatequina. D) Taxifolina E) Kaempferol. F) Nicotiflorina. . . . .	92
Figura A.2	Estructuras iniciales optimizadas en fase gas. Flavonoides: A) Robinetina. B) Quercetina. C) Isoquercetina. D) Quercetina 3- O-neohesperidósido. E) Quercetina 3-O-robinobiósido. F) Rutina. . .	93
Figura A.3	Estructuras iniciales optimizadas en fase gas. Flavonoides: A) Homoorientina. B) Luteolina 7,3'-diglucósido. C) Vitexina. D) Isovi- texina. E) Tangeretina. F) Daidzeina. G) Genisteina. H) Gliciteina. .	94
Figura A.4	Estructuras iniciales optimizadas en fase acuosa. Flavonoides: A) Catequina. B) Epicatequina. C) Gallocatequina. D) Taxifolina E) Kaempferol. F) Nicotiflorina. . . . .	95

Figura A.5 Estructuras iniciales optimizadas en fase acuosa. Flavonoides: A) Robinetina. B) Quercetina. C) Isoquercetina. D) Quercetina 3-O- neohesperidósido. E) Quercetina 3-O-robinobiósido. F) Rutina. . . . .	96
Figura A.6 Estructuras iniciales optimizadas en fase acuosa. Flavonoides: A) Homoorientina. B) Luteolina 7,3'-diglucósido. C) Vitexina. D) Iso- vitexina. E) Tangeretina. F) Daidzeina. G) Genisteina. H) Gliciteina. . . . .	97
Figura A.7 Estructuras radicalarias neutras de catequina optimizadas en fase gas . . . . .	98
Figura A.8 Estructuras radicalarias neutras de epicatequina optimizadas en fase gas . . . . .	99
Figura A.9 Estructuras radicalarias neutras de galocatequina optimizadas en fase gas . . . . .	100
Figura A.10 Estructuras radicalarias neutras de taxifolina optimizadas en fase gas . . . . .	101
Figura A.11 Estructuras radicalarias neutras de kaempferol optimizadas en fase gas . . . . .	102
Figura A.12 Estructuras radicalarias neutras de nicotiflorina optimizadas en fase gas . . . . .	103
Figura A.13 Estructuras radicalarias neutras de robinetina optimizadas en fase gas . . . . .	104
Figura A.14 Estructuras radicalarias neutras de quercetina optimizadas en fase gas . . . . .	105
Figura A.15 Estructuras radicalarias neutras de isoquercetina optimizadas en fase gas . . . . .	106
Figura A.16 Estructuras radicalarias neutras de quercetina 3-O-neohesperidósido optimizadas en fase gas . . . . .	107
Figura A.17 Estructuras radicalarias neutras de quercetina 3-O-robinobiósido optimizadas en fase gas . . . . .	108
Figura A.18 Estructuras radicalarias neutras de rutina optimizadas en fase gas . . . . .	109
Figura A.19 Estructuras radicalarias neutras de homoorientina optimizadas en fase gas . . . . .	110

Figura A.20 Estructuras radicalarias neutras de luteolina 7,3'-diglucósido optimizadas en fase gas . . . . .	110
Figura A.21 Estructuras radicalarias neutras de vitexina optimizadas en fase gas . . . . .	111
Figura A.22 Estructuras radicalarias neutras de isovitexina optimizadas en fase gas . . . . .	112
Figura A.23 Estructuras radicalarias neutras de daidzeina optimizadas en fase gas . . . . .	112
Figura A.24 Estructuras radicalarias neutras de genisteina optimizadas en fase gas . . . . .	113
Figura A.25 Estructuras radicalarias neutras de gliciteina optimizadas en fase gas . . . . .	113
Figura A.26 Estructuras radicalarias neutras de catequina optimizadas en fase acuosa . . . . .	114
Figura A.27 Estructuras radicalarias neutras de epicatequina optimizadas en fase acuosa . . . . .	115
Figura A.28 Estructuras radicalarias neutras de galocatequina optimizadas en fase acuosa . . . . .	116
Figura A.29 Estructuras radicalarias neutras de taxifolina optimizadas en fase acuosa . . . . .	117
Figura A.30 Estructuras radicalarias neutras de kaempferol optimizadas en fase acuosa . . . . .	118
Figura A.31 Estructuras radicalarias neutras de nicotiflorina optimizadas en fase acuosa . . . . .	119
Figura A.32 Estructuras radicalarias neutras de robinetina optimizadas en fase acuosa . . . . .	120
Figura A.33 Estructuras radicalarias neutras de quercetina optimizadas en fase acuosa . . . . .	121
Figura A.34 Estructuras radicalarias neutras de isoquercetina optimizadas en fase acuosa . . . . .	122
Figura A.35 Estructuras radicalarias neutras de quercetina 3-O-neohesperidósido optimizadas en fase acuosa . . . . .	123

Figura A.36 Estructuras radicalarias neutras de quercetina 3-O-robinobiósido optimizadas en fase acuosa . . . . .	124
Figura A.37 Estructuras radicalarias neutras de rutina optimizadas en fase acuosa . . . . .	125
Figura A.38 Estructuras radicalarias neutras de homoorientina optimizadas en fase acuosa . . . . .	126
Figura A.39 Estructuras radicalarias neutras de luteolina 7,3'-diglucósido optimizadas en fase acuosa . . . . .	126
Figura A.40 Estructuras radicalarias neutras de vitexina optimizadas en fase acuosa . . . . .	127
Figura A.41 Estructuras radicalarias neutras de isovitexina optimizadas en fase acuosa . . . . .	128
Figura A.42 Estructuras radicalarias neutras de daidzeina optimizadas en fase acuosa . . . . .	128
Figura A.43 Estructuras radicalarias neutras de genisteina optimizadas en fase acuosa . . . . .	129
Figura A.44 Estructuras radicalarias neutras de gliciteina optimizadas en fase acuosa . . . . .	129
Figura A.45 Estructuras radicalarias catiónicas optimizadas en fase gas. Flavonoides: A) Catequina. B) Epicatequina. C) Gallocatequina. D) Taxifolina E) Kaempferol. F) Nicotiflorina. . . . .	130
Figura A.46 Estructuras radicalarias catiónicas optimizadas en fase gas. Flavonoides: A) Robinetina. B) Quercetina. C) Isoquercetina. D) Quercetina 3-O-neohesperidósido. E) Quercetina 3-O-robinobiósido. F) Rutina. . . . .	131
Figura A.47 Estructuras radicalarias catiónicas optimizadas en fase gas. Flavonoides: A) Homoorientina. B) Luteolina 7,3'-diglucósido. C) Vitexina. D) Isovitexina. E) Tangeretina. F) Daidzeina. G) Genisteina. H) Gliciteina. . . . .	132
Figura A.48 Estructuras radicalarias catiónicas optimizadas en fase acuosa. Flavonoides: A) Catequina. B) Epicatequina. C) Gallocatequina. D) Taxifolina E) Kaempferol. F) Nicotiflorina. . . . .	133

Figura A.49 Estructuras radicalarias catiónicas optimizadas en fase acuosa. Flavonoides: A) Robinetina. B) Quercetina. C) Isoquercetina. D) Quercetina 3-O-neohesperidósido. E) Quercetina 3-O-robinobiósido. F) Rutina. . . . .	134
Figura A.50 Estructuras radicalarias catiónicas optimizadas en fase acuosa. Flavonoides: A) Homoorientina. B) Luteolina 7,3'-diglucósido. C) Vitexina. D) Isovitexina. E) Tangeretina. F) Daidzeina. G) Genisteina. H) Gliciteina. . . . .	135
Figura A.51 Estructuras radicalarias aniónicas optimizadas en fase gas. Flavonoides: A) Catequina. B) Epicatequina. C) Gallocatequina. D) Taxifolina E) Kaempferol. F) Nicotiflorina. . . . .	136
Figura A.52 Estructuras radicalarias aniónicas optimizadas en fase gas. Flavonoides: A) Robinetina. B) Quercetina. C) Isoquercetina. D) Quercetina 3-O-neohesperidósido. E) Quercetina 3-O-robinobiósido. F) Rutina.	137
Figura A.53 Estructuras radicalarias aniónicas optimizadas en fase gas. Flavonoides: A) Homoorientina. B) Luteolina 7,3'-diglucósido. C) Vitexina. D) Isovitexina. E) Tangeretina. F) Daidzeina. G) Genisteina. H) Gliciteina. . . . .	138
Figura A.54 Estructuras radicalarias aniónicas optimizadas en fase acuosa. Flavonoides: A) Catequina. B) Epicatequina. C) Gallocatequina. D) Taxifolina E) Kaempferol. F) Nicotiflorina. . . . .	139
Figura A.55 Estructuras radicalarias aniónicas optimizadas en fase acuosa. Flavonoides: A) Robinetina. B) Quercetina. C) Isoquercetina. D) Quercetina 3-O-neohesperidósido. E) Quercetina 3-O-robinobiósido. F) Rutina. . . . .	140
Figura A.56 Estructuras radicalarias aniónicas optimizadas en fase acuosa. Flavonoides: A) Homoorientina. B) Luteolina 7,3'-diglucósido. C) Vitexina. D) Isovitexina. E) Tangeretina. F) Daidzeina. G) Genisteina. H) Gliciteina. . . . .	141

Figura A.57 Estructuras aniónicas optimizadas en fase gas. Flavonoides: A) Catequina (4'-O<sup>-</sup>). B) Epicatequina (4'-O<sup>-</sup>). C) Gallocatequina (4'-O<sup>-</sup>). D) Taxifolina(4'-O<sup>-</sup>). E) Kaempferol (3-O<sup>-</sup>). F) Nicotiflorina (4'-O<sup>-</sup>). . . . . 142

Figura A.58 Estructuras aniónicas optimizadas en fase gas. Flavonoides: A) Robinetina (4'-O<sup>-</sup>). B) Quercetina (4'-O<sup>-</sup>). C) Isoquercetina (4'-O<sup>-</sup>). D) Quercetina 3-O-neohesperidósido (4'-O<sup>-</sup>). E) Quercetina 3-O-robinobiosido (4'-O<sup>-</sup>). F) Rutina (4'-O<sup>-</sup>). . . . . 143

Figura A.59 Estructuras aniónicas optimizadas en fase gas. Flavonoides: A) Homoorientina (4'-O<sup>-</sup>). B) Luteolina 7,3'-diglucósido (4'-O<sup>-</sup>). C) Vitexina (4'-O<sup>-</sup>). D) Isovitexina (5-O<sup>-</sup>). E) Tangeretina (4'-O<sup>-</sup>). F) Daidzeina (4'-O<sup>-</sup>). G) Genisteina (4'-O<sup>-</sup>). H) Gliciteina (4'-O<sup>-</sup>). . . . 144

Figura A.60 Estructuras aniónicas optimizadas en fase acuosa. Flavonoides: A) Catequina (4'-O<sup>-</sup>). B) Epicatequina (4'-O<sup>-</sup>). C) Gallocatequina (4'-O<sup>-</sup>). D) Taxifolina (4'-O<sup>-</sup>). E) Kaempferol (3-O<sup>-</sup>). F) Nicotiflorina (4'-O<sup>-</sup>). . . . . 145

Figura A.61 Estructuras aniónicas optimizadas en fase acuosa. Flavonoides: A) Robinetina (4'-O<sup>-</sup>). B) Quercetina (4'-O<sup>-</sup>). C) Isoquercetina (4'-O<sup>-</sup>). D) Quercetina 3-O-neohesperidósido (4'-O<sup>-</sup>). E) Quercetina 3-O-robinobiosido (4'-O<sup>-</sup>). F) Rutina (4'-O<sup>-</sup>). . . . . 146

Figura A.62 Estructuras aniónicas optimizadas en fase acuosa. Flavonoides: A) Homoorientina (4'-O<sup>-</sup>). B) Luteolina 7,3'-diglucósido (4'-O<sup>-</sup>). C) Vitexina (4'-O<sup>-</sup>). D) Isovitexina (5-O<sup>-</sup>). E) Tangeretina (4'-O<sup>-</sup>). F) Daidzeina (4'-O<sup>-</sup>). G) Genisteina (4'-O<sup>-</sup>). H) Gliciteina (4'-O<sup>-</sup>). . . . 147

Figura A.63 Estructuras del Trolox optimizadas en fase gas. A) Inicial. B) Radical neutro 2-COO<sup>•</sup>. C) Radical neutro 6-O<sup>•</sup>. D) Radical catiónico. E) Radical aniónico. F) Anión 6-O<sup>-</sup> . . . . . 148

Figura A.64 Estructuras del Trolox optimizadas en fase acuosa. A) Inicial. B) Radical neutro 2-COO<sup>•</sup>. C) Radical neutro 6-O<sup>•</sup>. D) Radical catiónico. E) Radical aniónico. F) Anión 6-O<sup>-</sup>. . . . . 149

Figura B.1 Distribución de densidad de espín en las estructuras radicalarias neutras en fase acuosa. Flavonoides: A) Catequina. B) Epicatequina. C) Gallocatequina. D) Taxifolina. E) KaempferoL. F) Nicotiflorina. G) Robinetina. H) Quercetina. . . . . 151

Figura B.2 Distribución de densidad de espín en las estructuras radicalarias neutras en fase acuosa. Flavonoides: A) Isoquercetina. B) Quercetina 3-O-robinobiósido. C) Quercetina 3-O-neohesperidósido. D) Rutina. E) Homoorientina. F) Luteolina 7,3'-diglucósido. . . . . 152

Figura B.3 Distribución de densidad de espín en las estructuras radicalarias neutras en fase acuosa. Flavonoides: A) Vitexina. B) Isovitexina. C) Daidzeina. D) Genisteina. E) Gliciteina. F) Trolox. . . . . 153

Figura B.4 Distribución de densidad de espín en las estructuras radicalarias catiónicas en fase acuosa. Flavonoides: A) Catequina. B) Epicatequina. C) Gallocatequina. D) Taxifolina. E) KaempferoL. F) Nicotiflorina. G) Robinetina. H) Quercetina. . . . . 154

Figura B.5 Distribución de densidad de espín en las estructuras radicalarias catiónicas en fase acuosa. Flavonoides: A) Isoquercetina. B) Quercetina 3-O-neohesperidósido. C) Quercetina 3-O-robinobiósido. D) Rutina. E) Homoorientina. F) Luteolina 7,3'-diglucósido. . . . . 155

Figura B.6 Distribución de densidad de espín en las estructuras radicalarias catiónicas en fase acuosa. Flavonoides: A) Vitexina. B) Isovitexina. C) Tangeretina D) Daidzeina. E) Genisteina. F) Gliciteina. G) Trolox. . . . . 156

Figura C.1 Regiones con mayor densidad de espín en las estructuras radicalarias neutras en fase gas. Flavonoides: A) Catequina. B) Epicatequina. C) Gallocatequina. D) Taxifolina. E) KaempferoL. F) Nicotiflorina. . . . . 158

Figura C.2 Regiones con mayor densidad de espín en las estructuras radicalarias neutras en fase gas. Flavonoides: A) Robinetina. B) Quercetina. C) Isoquercetina. D) Quercetina 3-O-neohesperidósido. E) Quercetina 3-O-robinobiósido. F) Rutina. . . . . 159

Figura C.3 Regiones con mayor densidad de espín en las estructuras radicalarias neutras en fase gas. Flavonoides: A) Homoorientina. B) Luteolina 7,3'-diglucósido. C) Vitexina. D) Isovitexina. E) Tangeretina. F) Daidzeina. G) Genisteina. H) Gliciteina. . . . . 160

Figura C.4 Regiones con mayor densidad de espín en las estructuras radicalarias neutras en fase acuosa. Flavonoides: A) Catequina. B) Epicatequina. C) Gallocatequina. D) Taxifolina. E) KaempferoL. F) Nicotiflorina. . . . . 161

Figura C.5 Regiones con mayor densidad de espín en las estructuras radicalarias neutras en fase acuosa. Flavonoides: A) Robinetina. B) Quercetina. C) Isoquercetina. D) Quercetina 3-O-neohesperidósido. E) Quercetina 3-O-robinobiósido. F) Rutina. . . . . 162

Figura C.6 Regiones con mayor densidad de espín en las estructuras radicalarias neutras en fase acuosa. Flavonoides: A) Homoorientina. B) Luteolina 7,3'-diglucósido. C) Vitexina. D) Isovitexina. E) Tangeretina. F) Daidzeina. G) Genisteina. H) Gliciteina. . . . . 163

Figura C.7 Regiones con mayor densidad de espín en las estructuras radicalarias catiónicas en fase gas. Flavonoides: A) Catequina. B) Epicatequina. C) Gallocatequina. D) Taxifolina. E) KaempferoL. F) Nicotiflorina. . . . . 164

Figura C.8 Regiones con mayor densidad de espín en las estructuras radicalarias catiónicas en fase gas. Flavonoides: A) Robinetina. B) Quercetina. C) Isoquercetina. D) Quercetina 3-O-neohesperidósido. E) Quercetina 3-O-robinobiósido. F) Rutina. . . . . 165

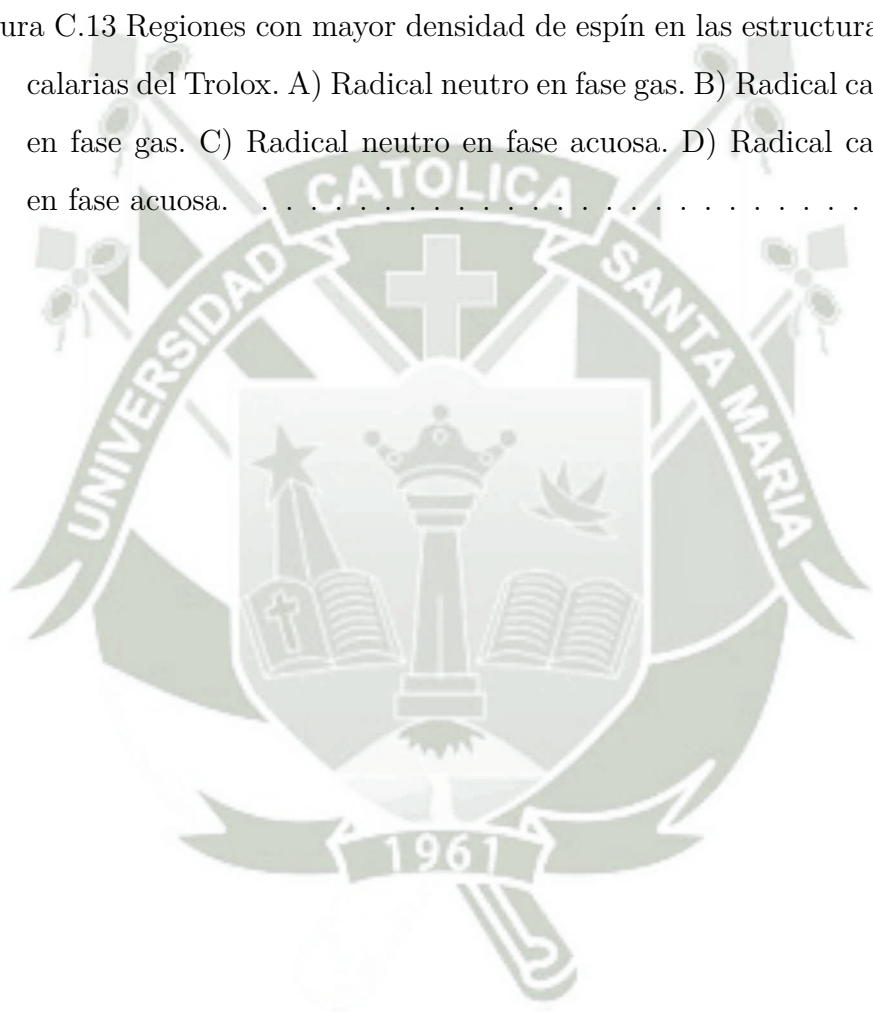
Figura C.9 Regiones con mayor densidad de espín en las estructuras radicalarias catiónicas en fase gas. Flavonoides: A) Homoorientina. B) Luteolina 7,3'-diglucósido. C) Vitexina. D) Isovitexina. E) Tangeretina. F) Daidzeina. G) Genisteina. H) Gliciteina. . . . . 166

Figura C.10 Regiones con mayor densidad de espín en las estructuras radicalarias catiónicas en fase acuosa. Flavonoides: A) Catequina. B) Epicatequina. C) Gallocatequina. D) Taxifolina. E) KaempferoL. F) Nicotiflorina. . . . . 167

Figura C.11 Regiones con mayor densidad de espín en las estructuras radicalarias catiónicas en fase acuosa. Flavonoides: A) Robinetina. B) Quercetina. C) Isoquercetina. D) Quercetina 3-O-neohesperidósido. E) Quercetina 3-O-robinobiósidio. F) Rutina. . . . . 168

Figura C.12 Regiones con mayor densidad de espín en las estructuras radicalarias catiónicas en fase acuosa. Flavonoides: A) Homoorientina. B) Luteolina 7,3'-diglucósido. C) Vitexina. D) Isovitexina. E) Tange retina. F) Daidzeina. G) Genisteina. H) Gliciteina. . . . . 169

Figura C.13 Regiones con mayor densidad de espín en las estructuras radicalarias del Trolox. A) Radical neutro en fase gas. B) Radical catiónico en fase gas. C) Radical neutro en fase acuosa. D) Radical catiónico en fase acuosa. . . . . 170



# Índice de Tablas

Tabla 2.1	Características estructurales de los flavonoides según su clasificación . . . . .	14
Tabla 2.2	Interpretación del coeficiente de correlación de Pearson . . . . .	32
Tabla 3.1	Especificaciones de las estructuras iónicas y radicalarias generadas por la modificación de los flavonoides iniciales optimizados . . . . .	37
Tabla 4.1	Características estructurales específicas de los 20 flavonoides presentes en las hojas de <i>A. muricata</i> . . . . .	42
Tabla 4.2	<i>BDE</i> (en kcal/mol) de los diferentes grupos OH presentes en los flavonoides . . . . .	44
Tabla 4.3	$\Delta H$ (en kcal/mol) de los <i>BDEs</i> calculados . . . . .	47
Tabla 4.4	<i>BDE</i> (en kcal/mol) de los sitios activos de los flavonoides . . . . .	48
Tabla 4.5	<i>IE</i> y <i>EA</i> (en kcal/mol) de los flavonoides . . . . .	50
Tabla 4.6	<i>IE</i> y <i>PDE</i> (en kcal/mol) de los sitios activos de los flavonoides . . . . .	53
Tabla 4.7	<i>PA</i> y <i>ETE</i> (en kcal/mol) de los sitios activos de los flavonoides . . . . .	55
Tabla 4.8	%AA experimentales reportados en algunos de los flavonoides analizados y las correspondientes <i>BDE</i> , <i>ETE</i> , <i>IE</i> calculadas computacionalmente . . . . .	59
Tabla 4.9	Índices de reactividad global (en eV) en fase gas . . . . .	61
Tabla 4.10	Índices de reactividad global (en eV) en fase acuosa . . . . .	62
Tabla 4.11	Longitud del enlace de hidrógeno intramolecular en el sitio activo de los flavonoides que presentan un grupo OH vecino . . . . .	65
Tabla 4.12	Densidad de espín del átomo más reactivo en los flavonoides radicalarios neutros . . . . .	67

Tabla 4.13 Densidad de espín del átomo más reactivo en los flavonoides radicalarios catiónicos . . . . .	69
Tabla D.1 Entalpías totales (H) de las estructuras iniciales, aniónicas, radicalarias catiónicas y radicalarias aniónicas optimizadas en fase gas con wB97XD/TZVP . . . . .	171
Tabla D.2 Entalpías totales (H) de las estructuras iniciales, aniónicas, radicalarias catiónicas y radicalarias aniónicas optimizadas en fase acuosa con wB97XD/TZVP . . . . .	172
Tabla D.3 Entalpías totales (H) de las estructuras radicalarias neutras optimizadas en fase gas y fase acuosa con con wB97XD/TZVP . . . . .	173
Tabla D.4 Entalpías totales (H) de F y Na con wB97XD/TZVP . . . . .	174
Tabla D.5 <i>RIE</i> y <i>REA</i> calculados con los valores de F y Na como aceptor y donador de electrones de referencia . . . . .	174



## Glosario

- %AA : Porcentaje de actividad antioxidante
- $\Delta H$  : Entalpía relativa
- Å : Ångstrom, unidad de longitud atómica equivalente a 0,1 nanómetros
- BDE : Entalpía de disociación de un enlace O-H (*Bond Dissociation Enthalpy*)
- BDE<sub>min</sub> : Mínima entalpía de disociación de un enlace O-H
- DFT : Teoría funcional de la densidad (*Density Functional Theory*)
- EA : Afinidad electrónica (*Electron Affinity*)
- ERO : Especies reactivas de oxígeno
- ETE : Entalpía de transferencia de un electrón (*Electron Transfer Enthalpy*)
- eV : Electron voltio, unidad de energía (1 eV = 23.069 kcal/mol)
- FEDAM : Mapa completo donador aceptor de electrones (*Full Electron Donor Acceptor Map*)
- H : Entalpía/Hidrógeno
- Hartree : Unidad atómica de energía (1 Hartree = 627.51 kcal/mol)
- HAT : Transferencia de un átomo de hidrógeno (*Hydrogen Atom Transfer*)
- IE : Entalpía de ionización (*Ionization Enthalpy*)
- kcal/mol : Kilocalorías por mol (energía por cantidad de materia)
- kJ/mol : Kilojoules por mol
- PA : Afinidad protónica (*Proton Affinity*)
- PDE : Entalpía de disociación de un protón (*Proton Dissociation Enthalpy*)
- Pka : pH al cual un compuesto logra una disociación ácida
- QM : Mecánica cuántica (*Quantum Mechanics*)
- QSAR : Relación cuantitativa estructura-actividad (*Quantitative Structure-Activity Relationship*)
- r : Coeficiente de correlación de Pearson/Posición de una partícula
- REA : Afinidad electrónica relativa (*Relative Electron Affinity*)

RIE : Entalpía de ionización relativa (*Relative Ionization Enthalpy*)

S : Blandura química

SCRf : Campo de reacción auto-consistente (*Self-Consistent Reaction Field*)

SEPT : Transferencia secuencial de un electrón y un protón (*Sequential Electron Proton Transfer*)

SET : Transferencia de un solo electrón (*Single Electron Transfer*)

SMD : Modelo de solvatación de la densidad (*Solvation Model of Density*)

SPLET : Pérdida de un protón y transferencia de un electrón (*Sequential Proton Loss Electron Transfer*)

SPLHAT : Pérdida de un protón y transferencia de un átomo de hidrógeno (*Sequential Proton Loss Hydrogen Atom Transfer*)

TZVP : Set de funciones de base de los orbitales atómicos

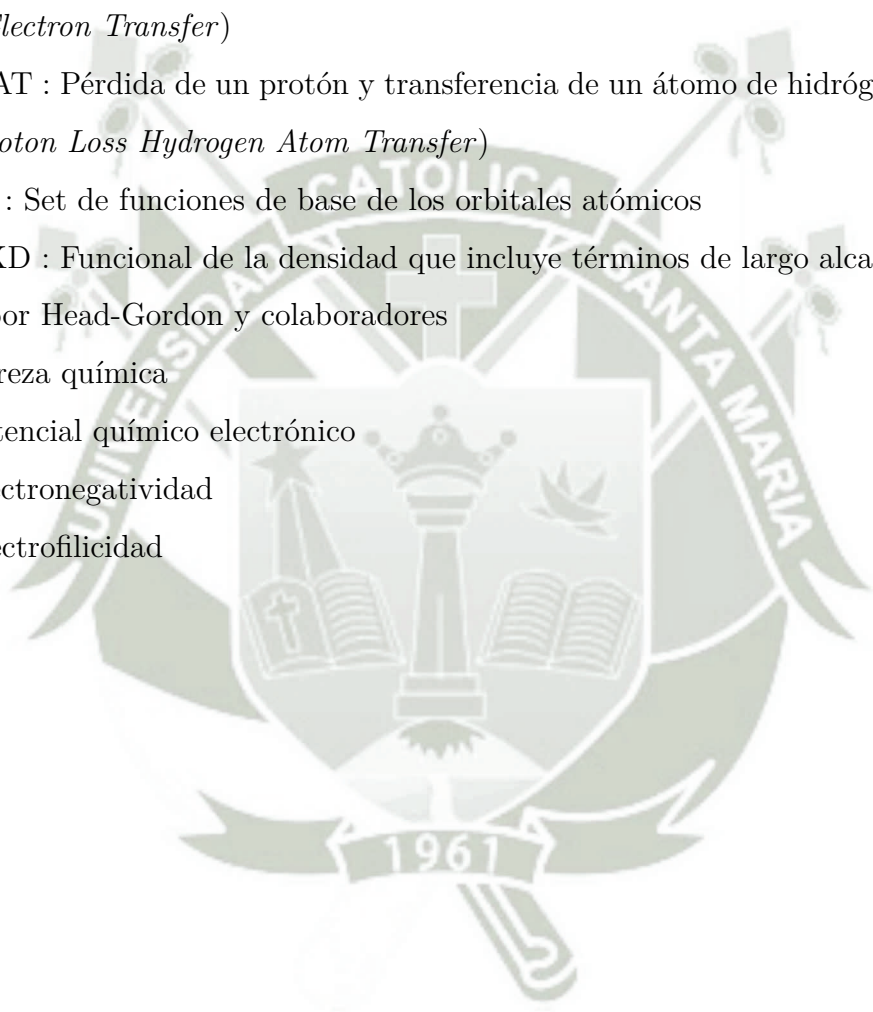
wB97XD : Funcional de la densidad que incluye términos de largo alcance, desarrollada por Head-Gordon y colaboradores

$\eta$  : Dureza química

$\mu$  : Potencial químico electrónico

$\chi$  : Electronegatividad

$\omega$  : Electrofilicidad



## Resumen

La contaminación, ritmo de vida y productos tóxicos a los que está expuesta la población generan estrés oxidativo a nivel metabólico. El estrés oxidativo, acumulación de radicales libres, aumenta la incidencia de enfermedades y procesos degenerativos que conllevan altos costos sociales. La investigación en antioxidantes, moléculas capaces de inhibir a los radicales libres, tiene como fin encontrar compuestos más eficientes para ser utilizados en suplementos alimenticios y terapias de gran demanda. *Annona muricata* (Guanábana) es una planta reconocida por sus propiedades terapéuticas a causa de sus compuestos bioactivos, entre ellos flavonoides presentes principalmente en las hojas. En el presente estudio se evaluó la capacidad antioxidante de estos flavonoides mediante química computacional, aprovechando el desarrollo de los métodos cuánticos actuales. Todas las formas estructurales de los flavonoides fueron optimizadas con la funcional wB97XD y el set de base TZVP, tanto en fase gas como en solvatación con agua. Las propiedades de reactividad como entalpía de disociación de un enlace O-H (*BDE*), entalpía de ionización (*IE*), afinidad electrónica (*EA*), entalpía de disociación de un protón (*PDE*), afinidad protónica (*PA*) y entalpía de transferencia de un electrón (*ETE*) fueron usadas para describir la actividad antioxidante en los mecanismos de reacción de transferencia de un átomo de hidrógeno (*HAT*), transferencia de un sólo electrón (*SET*), transferencia secuencial de un electrón y un protón (*SEPT*), y pérdida de un protón y transferencia de un electrón (*SPLET*). Se evaluó también la estabilidad de las formas radicalarias al formar un enlace de hidrógeno intramolecular en su sitio activo y mediante distribución de densidad de espín. Se encontró que catequina, epicatequina, galocatequina, robinetina, quercetina y kaempferol muestran los menores requerimientos energéticos para reaccionar en agua mediante más de un mecanismo. La presencia estructural de un catecol o pirogalol en el anillo B, un grupo OH en la posición 3 y la reducción de la longitud del enlace de hidrógeno intramolecular son caracterís-

ticas que favorecen la actividad y estabilidad de estos flavonoides. Se encontró una correlación negativa fuerte entre las propiedades calculadas y datos experimentales anteriormente reportados, coincidiendo en que *HAT* es la vía más factible termodinámicamente. No obstante, la mayor deslocalización electrónica se encontró en las formas radicalarias de la vía *SET*.

**Palabras clave:** Antioxidantes, flavonoides, *Annona muricata*, química computacional



## Abstract

The contamination, the rhythm of life and the toxic products, to which the population is continually exposed, generate oxidative stress at metabolic level. Oxidative stress, accumulation of free radicals, increases the incidence of diseases and degenerative processes that entail high social costs. Research in antioxidants, capable molecules inhibiting free radicals, aims to find more efficient compounds to be used in food supplements and therapies with high demand. *Annona muricata* (Soursop) is a plant known for its therapeutic properties because of its bioactive compounds, among which flavonoids occur mainly in the leaves. In the present study, the antioxidant capacity of these flavonoids was evaluated by computational chemistry, taking advantage of the development of current quantum methods. All the structural forms of the flavonoids were optimized using the functional wB97XD and the TZVP base set, both in gas phase and in water solvation. The reactivity properties like *Bond Dissociation Enthalpy (BDE)*, *Ionization Enthalpy (IE)*, *Electron Affinity (EA)*, *Proton Dissociation Enthalpy (PDE)*, *Proton Affinity (PA)* and *Electron Transfer Enthalpy (ETE)* were used to describe the antioxidant activity in the reaction mechanisms of *Hydrogen Atom Transfer (HAT)*, *Single Electron Transfer (SET)*, *Sequential Electron Proton Transfer (SEPT)* and *Sequential Proton Loss Electron Transfer (SPLET)*. The stability of the radical forms was also evaluated by forming an intramolecular hydrogen bond in the active site and by spin density distribution. It was found that catechin, epicatechin, galocatechin, robinetin, quercetin and kaempferol show the lowest energy requirements to react in water by more than one mechanism. The structural presence of a catechol or pyrogallol in the B ring, an OH group in position 3 and the reduction of the intramolecular hydrogen bond length are characteristics that favor the activity and stability of these flavonoids. A strong negative correlation was found between the calculated properties and experimental data previously reported, coinciding that *HAT* is the most thermodynamically feasible way. However,

the greatest electronic delocalization was found in the radical forms of the *SET* way.

**Key words:** Antioxidants, flavonoids *Annona muricata*, computational chemistry.



# Capítulo 1

## Introducción

Se ha comprobado y divulgado científicamente que los componentes de la dieta influyen en la calidad de vida de las personas, reduciendo o incrementando el riesgo de padecer enfermedades.<sup>1,2</sup> Centros de investigación, así como empresas nacionales y privadas orientadas a áreas químicas y biológicas en países desarrollados, se encuentran continuamente en busca de estrategias de prevención y tratamiento de tales enfermedades.

Se ha vuelto una tendencia mundial la búsqueda de alimentos naturales o productos de ellos que posean un valor adicional al nutricional, tanto por la alta demanda de los consumidores como por el potencial económico que le confiere a un país. Los componentes bioactivos que se encuentran en numerosas especies de plantas, cuyas propiedades benéficas han sido difundidas por medicina tradicional, deben estar sujetos a evaluación científica.<sup>3,4</sup>

Una de las principales propiedades, más promovidas y requeridas en los suplementos alimenticios es su actividad como antioxidantes.<sup>4</sup> Es así que, el número de publicaciones científicas en estrés oxidativo y antioxidantes se ha incrementado considerablemente en los últimos 20 años, según la base de datos de Scopus en el 2015.<sup>5</sup> Así mismo, la química computacional está cobrando importancia en la investigación de antioxidantes como una estrategia innovadora que acorta pasos en los estudios experimentales, logrando actualmente una cantidad importante de publicaciones a nivel internacional.<sup>5,6</sup>

La química computacional contribuye a entender las propiedades fisicoquímicas de los compuestos antioxidantes, examinar las relaciones de estructura-actividad y

hacer interpretaciones que complementen estudios *in vitro* e *in vivo* posteriores. Actualmente, muchos centros de investigación cuentan con computadoras de gran velocidad y capacidad de cálculo, implementadas con softwares especializados en base a algoritmos, de los cuales se obtienen resultados muy exactos.<sup>7</sup>

En el campo de la biotecnología, la química computacional puede ser utilizada en la investigación de especies químicas que intervienen en sistemas biológicos en general. Al igual que la bioinformática, es una herramienta muy útil en la ingeniería molecular, con la cual es posible realizar simulaciones moleculares y calcular de manera automatizada una amplia variedad de propiedades de interés.<sup>8</sup>

La investigación de distintos compuestos antioxidantes encontrados en una variedad de fuentes naturales, como flavonoides y otros, tiene la finalidad de seleccionar aquellos que exhiban una mayor actividad y mejores propiedades para su utilización en dietas terapéuticas y suplementos alimenticios, de esta manera prevenir o disminuir el deterioro celular y funcional del organismo.<sup>9,10</sup>

*Annona muricata*, conocida localmente como guanábana, ha sido considerada desde la antigüedad como una planta medicinal. Es por eso que en las últimas décadas la atención de muchos científicos se ha enfocado en investigar los compuestos bioactivos que le atribuyen tales propiedades terapéuticas.<sup>11,12</sup> Actualmente se encuentran productos derivados de la guanábana en mercados extranjeros de suplementos dietarios naturales.<sup>13</sup> Sin embargo, la mayor parte de información científica reportada es aún muy general. Por ejemplo, las propiedades antioxidantes de muchos compuestos bioactivos que se encuentran en esta planta no habían sido estudiadas de forma específica o a profundidad.<sup>14</sup>

Es relevante mencionar que el campo de investigación en antioxidantes es bastante amplio y existe aún mucha información por explorar. Constituye un reto superar las limitaciones de los experimentos y consolidar los hallazgos entre diferentes estudios.<sup>1</sup>

El presente trabajo busca contribuir en el desarrollo de la ciencia de los alimentos funcionales, aprovechando los grandes avances tecnológicos y dando importancia a la guanábana como una especie abundante en el país y de amplia aceptación en el mercado a nivel mundial.

## Objetivo general

Evaluar la capacidad antioxidante de los flavonoides presentes en las hojas de *Annona muricata* (Guanábana) mediante química computacional.

## Objetivos específicos

1. Generar las geometrías moleculares de partida de los flavonoides.
2. Optimizar las estructuras iniciales de los flavonoides.
3. Optimizar las estructuras iónicas y radicalarias de los flavonoides que son generadas en cada mecanismo de reacción antioxidante.
4. Evaluar las propiedades de reactividad intrínseca de los flavonoides como moléculas antioxidantes.
5. Correlacionar las propiedades de reactividad intrínseca calculadas con porcentajes de actividad antioxidante reportados experimentalmente.
6. Evaluar los índices de reactividad global de los flavonoides.
7. Evaluar la estabilidad de las formas radicalarias de los flavonoides al formar un enlace de hidrógeno intramolecular en el sitio activo.
8. Evaluar la estabilidad de las formas radicalarias de los flavonoides mediante la distribución de la densidad de espín (deslocalización electrónica).

## Hipótesis

Debido al desarrollo de los métodos computacionales cuánticos para la predicción de propiedades moleculares, es factible evaluar la capacidad antioxidante de los flavonoides presentes en las hojas de *Annona muricata* (Guanábana) mediante química computacional.



## Capítulo 2

### Marco Teórico

#### 2.1. Radicales libres

##### 2.1.1. Descripción

Un radical libre es una molécula que en su estructura presenta uno o más electrones desapareados o impares en el último orbital, proporcionándole una configuración con elevada inestabilidad y reactividad. Un radical libre busca estabilizarse quitando un electrón de otra molécula mediante una reacción de óxido-reducción. Por este motivo son también llamados moléculas oxidantes.<sup>15</sup> Se forman a partir de reacciones de iniciación, tanto como producto del metabolismo aeróbico dentro del organismo, como también por fuentes externas: contaminación del medio ambiente, radiación, cigarrillos, drogas, pesticidas y aditivos químicos.<sup>1</sup> Los procesos metabólicos celulares conducen a una producción normal de radicales libres.<sup>16-18</sup>

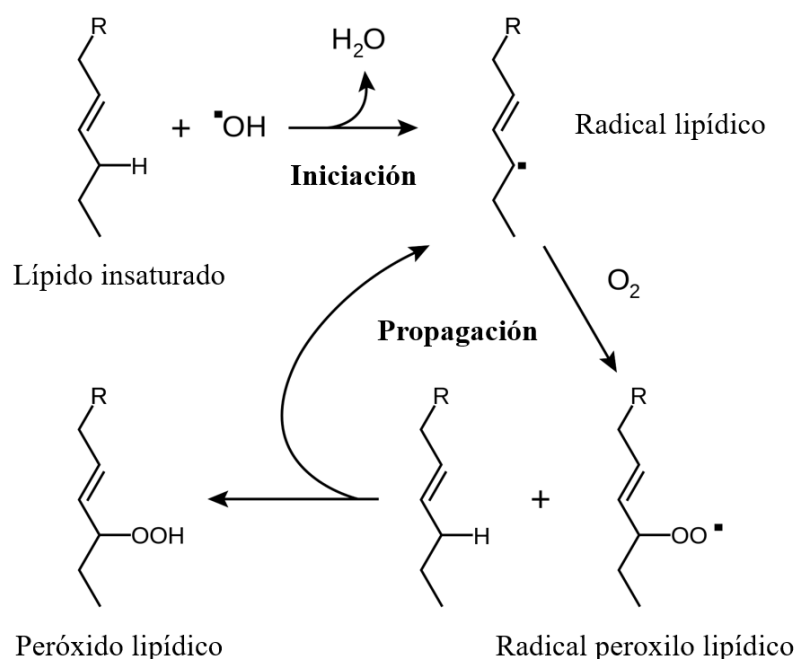
Para la descripción de reacciones químicas, el electrón impar de un radical libre se representa utilizando un punto como superíndice en el radical ( $R^\bullet$ ).<sup>19</sup>

##### 2.1.2. Estrés oxidativo

Es un desequilibrio biológico ocasionado por un exceso o acumulación de radicales libres. Una excesiva exposición a oxidantes externos así como una capacidad antioxidante disminuida (estilo de vida o efecto de alguna patología), generan una acumulación de radicales libres y se establece un estrés oxidativo.

Los radicales libres oxidan y modifican la estructura de componentes celulares

como lípidos, proteínas, azúcares y material genético. Estas biomoléculas se convierten en radicales orgánicos que aunque menos reactivos, generan múltiples reacciones de propagación en cadena mientras posean reactividad y su actividad no sea contrastada. La peroxidación lipídica generada a nivel de las membranas celulares es una de las cadenas oxidativas de mayor propagación (figura 2.1). La modificación estructural de los componentes celulares inhibe su función normal y contribuye a la acumulación de radicales libres, lo que da como resultado lesión celular.<sup>16,18,20-22</sup>



**Figura 2.1:** Peroxidación lipídica generada por el ataque de un radical hidroxilo ( $\bullet\text{OH}$ )

Finalmente, el daño producido por el estrés oxidativo incide en la aparición y desarrollo de diversas enfermedades y procesos degenerativos como envejecimiento prematuro, cáncer, diabetes mellitus, enfermedades neurológicas (Alzheimer, Parkinson), cardiovasculares, hepáticas e inmunitarias.<sup>1,2</sup>

### 2.1.3. Especies radicalarias

Un radical libre puede ser un derivado de oxígeno, nitrógeno o azufre; por lo que se les denomina especies reactivas de oxígeno (ERO), especies reactivas de nitrógeno (ERN) y especies reactivas de azufre (ERA), respectivamente.<sup>1</sup>

Los ERO son las especies radicalarias más abundantes y también las más estudiadas. Las moléculas más relevantes son el radical hidroxilo ( $\text{HO}\bullet$ ), radical anión

superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y radical hidroperoxilo ( $O_2H^{\bullet}$ ). Se caracterizan por ser especies de reactividad alta, capaces de convertir moléculas vecinas en otras ERO a una velocidad que alcanza microsegundos de reacción.<sup>20,21</sup>

## 2.2. Antioxidantes

### 2.2.1. Descripción

Un antioxidante es una molécula capaz de prevenir o reducir el estrés oxidativo. Puede actuar de dos maneras distintas: inhibiendo directamente la acción de los radicales libres, denominados antioxidantes primarios, o reparando el daño producido en tejidos afectados, denominados antioxidantes secundarios.<sup>2,16,18</sup>

Un antioxidante debe tener la capacidad de efectuar reacciones de terminación o inactivación de radicales libres, convirtiéndose en especies menos reactivas y más estables. Un compuesto antioxidante debe ser seleccionado por poseer una afinidad mayor que cualquier otra molécula para interactuar con un radical libre.<sup>17,18</sup> Su actividad y reactividad está relacionada con la configuración molecular y depende de 3 factores: La polaridad de la molécula, la distribución de sus grupos funcionales y las condiciones de reacción.<sup>17,23,24</sup>

### 2.2.2. Clasificación según su procedencia

#### 2.2.2.1. Endógenos

Los antioxidantes endógenos son los producidos continuamente dentro de nuestro organismo como mecanismo de defensa. Estos contrarrestan la producción normal de radicales libres en los procesos metabólicos. Sin embargo, sus niveles llegan a ser insuficientes frente a una sobreexposición a oxidantes o una capacidad antioxidante disminuida.<sup>2</sup>

#### 2.2.2.2. Exógenos

Los antioxidantes exógenos provienen de fuentes externas, comúnmente producidos por las plantas y proporcionados por la dieta. Al ser oxidados en la reacción con radicales libres, su actividad se reduce o anula, por lo que es necesaria la reposición

de estos antioxidantes mediante la ingestión de alimentos que los contengan.<sup>21</sup> Los antioxidantes derivados de fuentes naturales como frutos y verduras, han cobrado gran interés científico en las últimas dos décadas por su potencial uso en terapias antioxidantes. Los antioxidantes sintéticos son de poco interés y se tienen como estándares de medición para comparar con los antioxidantes naturales; son utilizados como aditivos para evitar la oxidación de alimentos procesados.<sup>1,20</sup>

### 2.2.3. Mecanismos de reacción

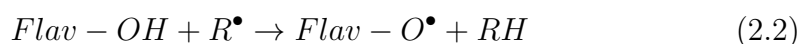
El mecanismo dominante en un sistema depende de la estructura y las propiedades de un compuesto, y de la naturaleza de un solvente dado.<sup>25</sup> Entre estudios teóricos y experimentales se han planteado 7 diferentes mecanismos de reacción antioxidante clasificados en dos grupos:<sup>5,26-28</sup>

#### 2.2.3.1. De un único paso

- **Formación de un radical aducto (*RAF*):** Unión entre el antioxidante y el radical libre formando una sola molécula radicalaria (ecuación 2.1). Es más factible en radicales libres electrofílicos de menor tamaño y en moléculas antioxidantes sin efecto estérico.

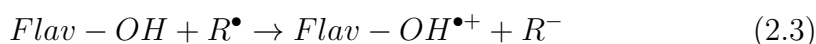


- **Transferencia de un átomo de hidrógeno (*HAT*):** El antioxidante cede un átomo de H al radical libre mediante una ruptura homolítica de un grupo hidroxilo, donde el antioxidante se transforma en un radical neutro, menos reactivo (ecuación 2.2). Es un mecanismo de reacción común en la mayoría de antioxidantes, especialmente en compuestos fenólicos.

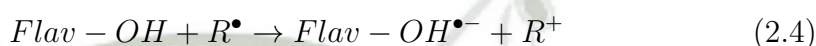


- **Transferencia de un solo electrón (*SET*):** Depende de la capacidad de la molécula de aceptar o donar un electrón. El mecanismo se puede dar en dos direcciones:

**SET I:** El antioxidante cede un electrón al radical libre, resultando en dos productos ionizados donde el antioxidante se transforma en un radical catiónico, menos reactivo (ecuación 2.3).

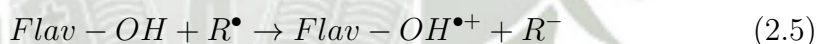


**SET II:** El radical libre cede un electrón al antioxidante, resultando en dos productos ionizados donde el antioxidante se transforma en un radical aniónico, menos reactivo (ecuación 2.4).

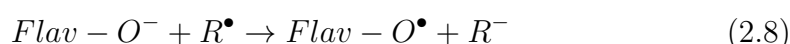
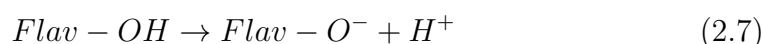


#### 2.2.3.2. De múltiples pasos

- **Transferencia secuencial de un electrón y un protón (SEPT):** El antioxidante cede primero un electrón al radical libre formando un radical catiónico intermediario y luego pierde un protón, transformándose en un radical neutro (ecuación 2.5 y 2.6).

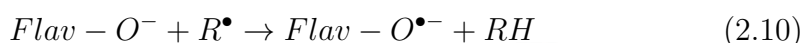
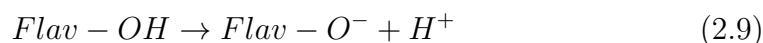


- **Pérdida de un protón y transferencia de un electrón (SPLET):** Mecanismo inverso a SEPT, el antioxidante cede primero un protón formando un anión y luego transfiere un electrón al radical libre, transformándose también en un radical neutro (ecuación 2.7 y 2.8).



El mismo grupo OH o sitio activo en el mecanismo *HAT* está asociado también en los mecanismos *SET*, *SEPT* y *SPLET*, donde tres de ellos resultan en los mismos productos de reacción.<sup>26</sup>

- **Pérdida de un protón y transferencia de un átomo de hidrógeno (*SPLHAT*):** El primer paso es igual al del mecanismo *SPLET*, pero difiere en el segundo paso de la reacción donde transfiere un átomo de hidrógeno al radical libre y se transforma en un radical aniónico, pero distinto al del mecanismo *SET II* (ecuación 2.9 y 2.10).



#### 2.2.4. Determinación de su actividad

La actividad antioxidante es determinada normalmente mediante métodos asociados con la capacidad antiradicalaria de los compuestos frente a radicales libres específicos. Los métodos deben proporcionar información acerca de la capacidad antioxidante intrínseca de los compuestos sin interferentes ambientales. Los métodos experimentales, que son los comúnmente usados, se dividen en dos tipos:

- Los que se basan en reacciones de tipo *HAT*, donde la técnica más usada es la fluorométrica *ORAC* (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*), la cual utiliza radicales peroxilo.
- Los que se basan en reacciones de tipo *SET*, donde las técnicas más usadas son las espectrofotométricas DPPH (radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo) y *TEAC* (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*), la cual utiliza al radical ABTS.

Estos métodos suelen incluir antioxidantes de referencia como Trolox (análogo sintético de vitamina E), vitamina C o vitamina E con los cuales establecen comparaciones.<sup>25,29,30</sup>

Existen actualmente métodos teóricos o computacionales validados que evalúan la capacidad antioxidante de compuestos desde enfoques electrónicos, termodinámicos y cinéticos. Varios de estos estudios han mostrado tener una buena correlación con las técnicas experimentales.<sup>31-42</sup> (*Más información en las sección 2.5.5*)

### 2.2.5. Terapia antioxidante

Una terapia antioxidante es la suministración de un suplemento dietario de antioxidantes. Tiene como objetivo reducir el estrés oxidativo en el organismo al recuperar el balance entre la producción de radicales libres y su neutralización con antioxidantes. Es un método de prevención y tratamiento complementario en las enfermedades y procesos de deterioro asociados al estrés oxidativo.<sup>1,43</sup> El estudio de la actividad antioxidante de distintos compuestos provenientes de fuentes naturales ha cobrado gran interés en la actualidad.<sup>23</sup>

Aunque algunos estudios han creado controversia acerca del rol antioxidante / prooxidante que puede tener un compuesto, se ha planteado que el efecto prooxidante depende de la formulación antioxidante, del estado del organismo (metabolismo normal o patológico) y de las dosis suministradas.<sup>20,44</sup>

## 2.3. *Annona muricata*

### 2.3.1. Descripción

Es una especie de planta tropical perteneciente a la familia *Annonaceae*, conocida comúnmente en Latinoamérica como guanábana y en el extranjero como *soursop*. *Annona muricata* es un árbol vertical de hoja perenne que mide de 5 a 8 metros de altura, posee hojas largas de haz verde oscuro y brillante. Sus frutos, altamente comercializados, son de forma acorazonada, largos, de cáscara verde y sabor dulce (figura 2.2).

### 2.3.2. Producción

Es originaria del centro y sur de América y África, sin embargo fue distribuida a diferentes zonas tropicales alrededor del mundo.<sup>12,45,46</sup> Desde el 2008, la producción de *A. muricata* en el Perú es superior a la de países como México y Costa Rica, siendo de 26.71 toneladas por hectárea en el 2016 y logrando siempre bajos costos de producción. Estos indicadores han incentivado el reciente planeamiento de estrategias competitivas y de exportación de esta planta en el país.<sup>47</sup>



Figura 2.2: Hojas y frutos de *Annona muricata* (Guanábana)

### 2.3.3. Propiedades

Los pueblos tradicionales utilizan principalmente las hojas de *A. muricata* como medicina alternativa para el tratamiento de insomnio, cistitis, diabetes, hipertensión, inflamación, disentería, malaria, espasmos. Los frutos, semillas, raíces y tallo también son usados para tratar tumores, artritis, parásitos, reumatismo, hipertensión, convulsión, diarrea, fiebre, entre otros. Debido a sus propiedades terapéuticas, *A. muricata* ha sido ampliamente estudiada en los últimos años, reconociendo principalmente sus propiedades antitumorales, antiinflamatorias y antidiabéticas.<sup>11,12,46,48,49</sup>

### 2.3.4. Compuestos bioactivos

*Annona muricata* posee más de 200 compuestos bioactivos identificados, principalmente acetogeninas, alcaloides, flavonoides y otros compuestos fenólicos. Ensayos experimentales muestran que las hojas de *A. muricata* son una fuente rica en flavonoides. La planta contiene un 9.67% de flavonoides, compuestos conocidos por su alta actividad antioxidante.<sup>12,14,46,49-52</sup>

## 2.4. Flavonoides

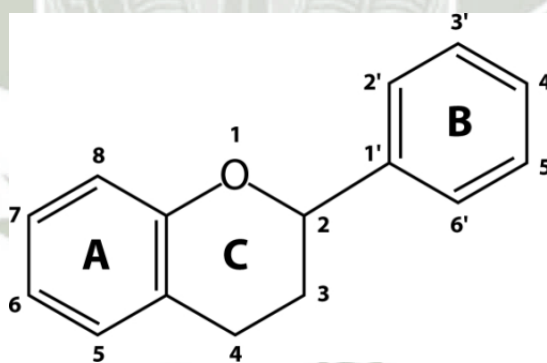
### 2.4.1. Descripción

Los flavonoides son metabolitos secundarios producidos por las plantas. Se encuentran en frutos, hojas, semillas, flores, tallos y raíces. Son compuestos polifenólicos que contienen dos anillos aromáticos en su estructura y se caracterizan por contener grupos hidroxilo.<sup>24,53</sup> Hasta el momento más de 15000 flavonoides se ha logrado extraer e identificar.<sup>54</sup>

En las plantas, los flavonoides pueden interactuar con diferentes dianas celulares, cumpliendo roles fisiológicos relacionados con reparación de daños causados por EROs, pigmentación de tejidos, defensa contra patógenos, regulación del transporte de auxinas, regulación de actividad enzimática.<sup>53,55-57</sup>

### 2.4.2. Estructura

Un flavonoide es una molécula de bajo peso molecular que posee un esqueleto común C6-C3-C6, fenilbenzopirano: un anillo benceno “A” unido a un anillo oxano “C” y sustituido en la posición 2 o 3 por un anillo fenilo “B” (figura 2.3). En la actualidad se han reportado más de 10000 variaciones estructurales de flavonoides.<sup>53,54</sup>

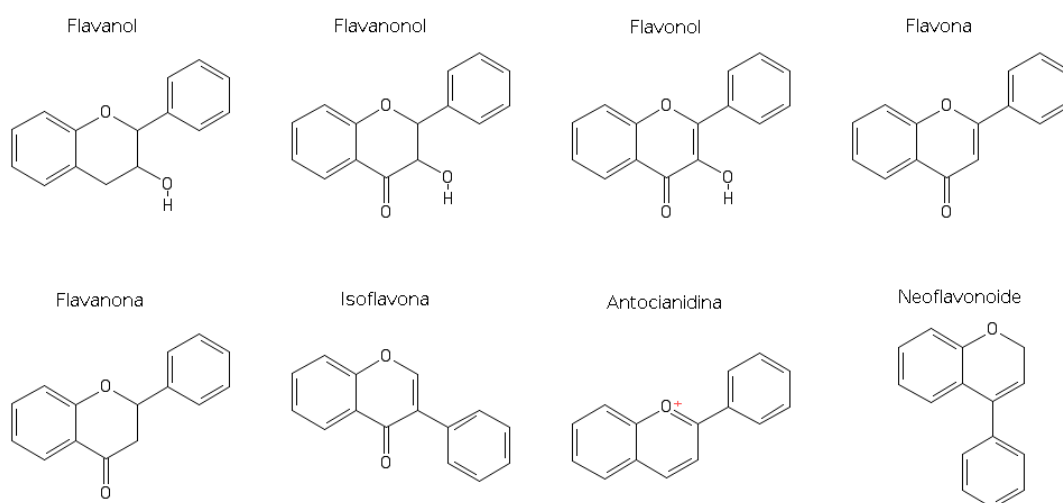


**Figura 2.3:** Esqueleto común de la estructura molecular de los flavonoides

### 2.4.3. Clasificación

Las diferentes sustituciones en el anillo C de los flavonoides permiten clasificarlos según su estructura en flavonoles, flavanoles, antocianidinas, flavonas, flavanonas, flavanonoles, isoflavonas y neoflavonoides (figura 2.4 y tabla 2.1). Estas sustituciones

ciones constituyen la variedad de flavonoides encontrados en diversas especies de plantas. <sup>1,23,56,58,59</sup>



**Figura 2.4:** Clasificación de los flavonoides según su estructura

En la mayoría de plantas, los flavonoles y las flavonas son los flavonoides más abundantes. <sup>60</sup>

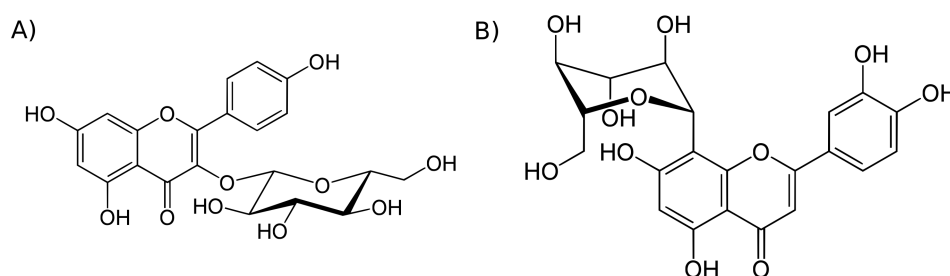
**Tabla 2.1:** Características estructurales de los flavonoides según su clasificación

Clases de flavonoides	Posición fenilo	Enlace C2=C3	Grupo 3-OH	Grupo C4=O	Enlace C3=C4	Grupo C2=O	Carga
Flavanol	C2		x				
Flavanonol	C2		x	x			
Flavonol	C2	x	x	x			
Flavona	C2	x		x			
Isoflavona	C3	x		x			
Flavanona	C2			x			
Antocianidina	C2				x		x
Neoflavonoide	C4				x	x	

#### 2.4.4. Glicósidos de flavonoides

Los flavonoides glicosilados reciben el nombre de glicósidos de flavonoides o flavonoides glicosídicos. Son flavonoides unidos a azúcares como glucosa, galactosa, ramnosa, rutinosa, xilosa y arabinosa, principalmente, aunque pueden encontrarse unidos a otros glúcidos. Se encuentran almacenados en las vacuolas celulares de las plantas y son más abundantes que los flavonoides no glicosilados, denominados aglicones. <sup>54,61-63</sup>

Normalmente se encuentran en la forma de flavonoide O-glicósido, cuando los glúcidos están unidos a un oxígeno, principalmente en la posición 3 del anillo C, como es el caso de los flavonoles. En otros casos se encuentran en la forma de flavonoide C-glicósido, cuando están unidos directamente a un carbono del anillo A o B, como es el caso de las flavonas (figura 2.5). La glicosilación de los flavonoides hace que estos sean más solubles en agua y menos reactivos.<sup>64</sup> Aún no existe información relevante sobre el efecto de glicósidos específicos sobre la capacidad antioxidante ni sobre su función en las plantas.<sup>53,56,59,61</sup>



**Figura 2.5:** Flavonoides glicosilados. A) O-glicósido B) C-glicósido

### 2.4.5. Bioactividad

Los flavonoides son actualmente considerados componentes importantes en la dieta y debido a su múltiple bioactividad son de gran interés en investigación. Diversos estudios epidemiológicos indican que una alta ingesta de flavonoides o alimentos ricos en flavonoides, está asociada con una baja incidencia de enfermedades e incremento de longevidad. Algunas propiedades reportadas tanto de flavonoides glicosídicos como aglicones de flavonoides son: efecto antioxidante, antiinflamatorio, antidiabético, anticancerígeno, hepatoprotector, neuroprotector, antiisquémico, antibacterial, antifúngico y antiviral.<sup>23,54,57,61,65-67</sup>

Las investigaciones han reportado que los flavonoides son capaces de actuar como antioxidantes frente a diferentes EROs mediante una actividad antiradicalaria, principalmente atacando radicales peróxido, radical hidroxilo, radical anión superóxido y oxígeno singlete.<sup>29,55,60,68</sup>

La reactividad de una molécula flavonoide proviene de sus anillos fenólicos.<sup>69</sup> Los grupos hidroxilo (OH fenólicos) y los dobles enlaces presentes en el esqueleto de los flavonoides intervienen en el mecanismo de reacción antioxidante. Es decir, depende

de su clasificación estructural. Existen dos factores que conducen a la estabilidad de los flavonoides radicalarios formados: La habilidad de deslocalización del electrón desapareado, y la formación de enlaces de hidrógeno entre un grupo OH y el oxígeno que posee el electrón desapareado.<sup>60</sup> Los mecanismos de reacción más estudiados y normalmente propuestos en flavonoides son *HAT*, *SET*, *SPLET* y *SEPT*.<sup>24,46,54</sup>

## 2.5. Química computacional

Es un conjunto de herramientas utilizadas para investigar sistemas químicos de interés mediante una computadora. Estas herramientas son también denominadas métodos “*in silico*” o de modelamiento molecular.

La química computacional es capaz de calcular la estructura, el comportamiento y las propiedades moleculares de sistemas mediante principios de química teórica, los cuales se basan en modelos matemáticos de mecánica cuántica (*QM*) y/o mecánica molecular (*MM*).<sup>70,71</sup>

Las propiedades comúnmente analizadas mediante química computacional son la geometría molecular, las propiedades de interacción enzima-sustrato, las propiedades de reactividad química que permiten predecir mecanismos de reacción, entre otras.<sup>72</sup>

Actualmente la química computacional es muy utilizada en la industria farmacéutica para el diseño de moléculas que exhiban propiedades deseadas y que puedan ser posteriormente sintetizadas.

### 2.5.1. Mecánica cuántica

#### 2.5.1.1. Descripción

La mecánica cuántica describe matemáticamente la naturaleza y comportamiento de las partículas atómicas. Sus postulados y teoremas fueron desarrollados en la segunda mitad del siglo XX y actualmente es una teoría aceptada por la física moderna. Es distinta a la mecánica clásica newtoniana, ya que tiene una naturaleza intrínsecamente probabilista, no determinista y menos intuitiva. Fue constituida a partir de los principios de superposición de estados, la dualidad onda-partícula, el de incertidumbre de Heisenberg y la distribución de probabilidades.<sup>71,73-75</sup>

La mecánica cuántica expresa un problema físico en términos matemáticos. Implementada de forma computacional, puede ser utilizada para calcular y caracterizar propiedades de sistemas moleculares de hasta 800 átomos. Según los postulados fundamentales de la mecánica cuántica, los sistemas cuánticos son descritos por funciones de onda que caracterizan dichas propiedades.<sup>71,73,76,77</sup>

### 2.5.1.2. Energía de un sistema

En los sistemas cuánticos de interés químico, la propiedad más importante y de mayor interés es la energía total, a partir de la cual otras propiedades químicas pueden ser calculadas.<sup>78</sup> La energía atómica se encuentra cuantizada en órbitas estacionarias en las cuales los electrones mantienen valores discretos de energía. Los cambios en la energía de un sistema se deben a transiciones de los electrones entre dos órbitas, pasando de un estado discreto a otro. La energía de un sistema molecular depende intrínsecamente de su configuración. La configuración con la más baja energía, es la más estable.<sup>79</sup>

La energía también puede ser representada mediante la entalpía, midiendo la energía de un sistema a volumen y presión constante. El cambio de entalpía de un sistema ( $\Delta H$ ) determina la energía transferida en una reacción en forma de calor.  $\Delta H$  es positiva si el sistema absorbe energía (endotérmica) y es negativa si el sistema libera energía (exotérmica).<sup>80</sup>

La energía de un sistema puede ser expresada en unidades atómicas “Hartree”, eV, kcal/mol o kJ/mol.

### 2.5.1.3. Sistemas estacionarios

En un sistema estacionario, la energía no varía con el tiempo. En estos sistemas, la energía total depende de la energía potencial ( $V$ ), la cual está determinada por la posición de sus partículas ( $r$ ) y es expresada a partir de las fuerzas Coulómbicas, es decir, de las fuerzas de interacción entre ellas. La mayoría de sistemas en la naturaleza son estacionarios.<sup>72,76</sup>

- **Ecuación de Schrodinger**

La energía de un sistema estacionario de hasta 2 electrones es calculada de manera exacta mediante la ecuación de Schrodinger independiente del tiempo

(ecuación 2.11 y 2.12), la cual determina la función de onda de las partículas de un sistema. La función de onda ( $\Psi$ ) describe el comportamiento ondulatorio de los electrones y permite conocer la información del estado de un sistema.<sup>72,76,77,81</sup>

$$\hat{H}\Psi = E\Psi \quad (2.11)$$

$$\hat{H} = -\frac{\hbar^2}{2m}\nabla^2 + V = -\frac{\hbar^2}{2m}\left(\frac{\partial^2}{\partial x^2} + \frac{\partial^2}{\partial y^2} + \frac{\partial^2}{\partial z^2}\right) + V \quad (2.12)$$

Donde,

$E$ : Energía total del sistema

$\hat{H}$ : Operador Hamiltoniano

$\Psi$ : Función de onda

$\hbar$ : Constante de Planck

$\nabla$ : Operador Laplaciano

$V$ : Energía potencial

$x, y, z$ : Coordenadas cartesianas

El operador Hamiltoniano molecular contiene tanto los términos cinéticos ( $\hat{T}$ ) como los términos electrostáticos ( $\hat{V}$ ) de las partículas (ecuación 2.13 y 2.14).

$$\hat{H} = \hat{T}_e + \hat{T}_n + \hat{V}_{ne} + \hat{V}_{ee} + \hat{V}_{nn} \quad (2.13)$$

$$\hat{H} = -\sum_{\alpha} \frac{\hbar^2 \nabla_{\alpha}^2}{2m_{\alpha}} - \sum_i \frac{\hbar^2 \nabla_i^2}{2m_i} + \sum_{\alpha} \sum_i \frac{-Z_{\alpha} e^2}{r_{\alpha i}} + \sum_i \sum_j \frac{e^2}{r_{ij}} + \sum_{\alpha} \sum_{\beta} \frac{Z_{\alpha} Z_{\beta} e^2}{r_{\alpha\beta}} \quad (2.14)$$

Donde,

$i$  y  $j$ : Electrones

$\alpha$  y  $\beta$ : Núcleos

$m$ : Masa

$r$ : Distancia entre partículas

$Z$ : Número atómico

Sin embargo, el cálculo de la energía mediante la ecuación de Schrodinger se ve afectado por las fuerzas de interacción electrónicas en sistemas de 3 a más electrones, donde la repulsión entre cada par electrónico provoca un efecto de

correlación con respecto a la posición del resto de electrones. Además, en el cálculo de la  $\Psi$  no se incluye el efecto de intercambio de espín electrónico que debe cumplir con el Principio de exclusión de Pauli. Este problema matemático es denominado como “Many body problem”. Hasta el momento este término de intercambio-correlación electrónica no ha sido resuelto de forma exacta, pero existen métodos mecánico cuánticos que logran incluir aproximaciones en sus cálculos.

### 2.5.2. Métodos computacionales

Los métodos de química teórica proporcionan solución al cálculo de la energía de sistemas polielectrónicos. Se encuentran implementados en softwares como algoritmos que permiten la representación estructural de moléculas y el cálculo de sus propiedades.<sup>71,72,76,78,82,83</sup> Según los requerimientos computacionales y la exactitud de los resultados, se dividen en:<sup>72,76</sup>

- **Métodos *Ab initio*:** Derivan únicamente de principios teóricos, pero su exactitud es inferior al resto de métodos. El método más utilizado es Hartree-Fock, el cual calcula la energía a partir de la función de onda, incluyendo un aproximado de los efectos de correlación ( $E_c$ ) al término de repulsión electrónica.
- **Semi-empírico:** Derivan de principios teóricos y parámetros experimentales que aproximan los efectos de correlación electrónica.
- **Funcional de la densidad:** Calculan la energía del sistema expresándola como una aproximación de la densidad electrónica, sin calcular la función de onda. Son bastante exactos y no requieren gran coste computacional.
- **Dinámica molecular:** Analiza el comportamiento de sistemas no estacionarios. A diferencia de los otros métodos, estos pueden incluir principios de  $QM$  como de mecánica clásica en simulaciones dependientes del tiempo.
- **$QM/MM$ :** Se utiliza en la simulación de moléculas con gran número de átomos. Mezcla métodos bastante exactos de  $QM$  con métodos rápidos de dinámica molecular.

### 2.5.3. Método Teoría Funcional de la Densidad (*DFT*)

#### 2.5.3.1. Descripción

Es un método de la química computacional aplicado en sistemas moleculares para comprender su reactividad química y sitios selectivos de reacción.<sup>84</sup>

La DFT calcula la energía total de un sistema y otras propiedades moleculares a partir de la densidad electrónica. Se basa en el teorema de Hohenberg-Kohn y fue desarrollada a partir de las ecuaciones de Kohn-Sham, donde la energía puede expresarse en términos del número de electrones ( $N$ ) y del potencial externo o energía potencial ( $V$ ). Las derivadas de la energía con respecto a  $N$  y  $V$  producen un conjunto de descriptores de reactividad global.<sup>78</sup>

#### 2.5.3.2. Densidad electrónica

La densidad electrónica es la probabilidad de encontrar a los  $N$ -electrones de una molécula en un volumen determinado. Nos permite conocer las regiones donde puede encontrarse una mayor distribución electrónica. Desde un núcleo fijo, los electrones son vistos como una nube de carga negativa.<sup>77,78</sup>

Es proporcional al cuadrado de la función de onda (ecuación 2.15), pero a diferencia de esta última, la densidad electrónica es un observable que puede ser medido experimentalmente, como por difracción de rayos X.<sup>83,85</sup>

$$\rho(r) = |\Psi(r)|^2 = \int_{-\infty}^{\infty} \Psi^* \Psi dr = 1 \quad (2.15)$$

Para DFT, la distribución electrónica en una molécula depende de la combinación de dos efectos:

- Efecto de intercambio o correlación de Fermi ( $E_x$ ): Como consecuencia del Principio de Exclusión de Pauli, existe una dependencia en la localización de dos electrones con espín iguales, lo que les determina coordenadas de espín definidas.
- Efecto de correlación Coulómbica ( $E_c$ ): Como consecuencia de la repulsión entre las cargas de los electrones.

La ecuación para calcular la  $E$  total a partir de la densidad electrónica (ecuación 2.16) es descompuesta en 3 términos, el cinético ( $T[\rho]$ ), el electrostático ( $V[\rho]$ ) y el de los efectos de intercambio y correlación ( $E_{xc}[\rho]$ ). De esta manera, la DFT parte de la resolución de la ecuación de Schrodinger monoeléctronica hasta incluir las aproximaciones necesarias para los términos de intercambio y correlación.<sup>86,87</sup>

$$E[\rho] = T[\rho] + V_{ee}[\rho] + V_{ne}[\rho] + E_{xc}[\rho] \quad (2.16)$$

## 2.5.4. Optimización de sistemas moleculares

### 2.5.4.1. Estados estacionarios

Una molécula se encuentra en estado estacionario cuando su densidad electrónica no varía con el tiempo y su energía se mantiene constante.

- **Estado fundamental:**

Corresponde a la conformación o isómero más estable y de mínima energía. Es el estado en el que una molécula se encuentra en equilibrio.

La multiplicidad de espín ( $M$ ) define el sub-estado en el que se encuentra una molécula según su última capa electrónica. Es definida como  $2S+1$ . Donde  $S$  es el número cuántico de espín total del sistema. Una molécula en estado fundamental puede encontrarse en los siguientes estados:<sup>88</sup>

**Singlete ( $M=1$ )**, cuando  $S=0$ , donde todos los orbitales se encuentran llenos. Dos electrones de espín  $+1/2$  y  $-1/2$  ( $\alpha$  y  $\beta$ , respectivamente). Este estado corresponde a moléculas estables o de capa cerrada.

**Doblete ( $M=2$ )**, cuando  $S=1/2$ , donde un electrón se encuentra desapareado. Este estado corresponde a especies radicalarias, moléculas inestables o de capa abierta.

**Triplete ( $M=3$ )**, cuando  $S=1$ , donde se encuentran dos electrones desapareados, con el mismo espín, en diferentes orbitales. Estos estados se dan en procesos de fluorescencia y fosforescencia.

- **Estado de transición:**

Corresponde a la conformación que alcanza la mayor energía en una reacción, pero es la de más baja energía en comparación con otras vías de reacción. Es un estado excitado de una molécula.

#### 2.5.4.2. Funcionales

Las funcionales de mecánica cuántica contienen todos los algoritmos necesarios para el cálculo de la energía total del sistema. En términos conceptuales, una funcional es una función matemática que depende de otra u otras funciones.<sup>89</sup>

Existe una gran variedad de funcionales de *QM* desarrolladas por diferentes autores y que han sido implementadas en los softwares de química computacional para su selección según los requerimientos del investigador. Las funcionales de la densidad incluyen los términos de intercambio y correlación electrónica (ecuación 2.16). Entre las más utilizadas se encuentran las funcionales híbridas, las cuales incorporan una parte exacta del término de intercambio del método Hartree-Fock, y las funcionales de la densidad.<sup>90</sup>

Recientemente se han desarrollado funcionales más eficientes que incluyen correcciones en el cálculo de términos no enlazantes, como la fuerza de interacción Van der Waals; éstas son denominadas funcionales de largo alcance. Entre las que proporcionan mejores resultados se encuentran CAM-B3LYP (funcional híbrida), LC-wPBE (funcional híbrida) y wB97XD (funcional de densidad)<sup>90</sup>.

#### 2.5.4.3. Funciones de base

Son un conjunto de funciones que determinan la naturaleza de los enlaces químicos según la Teoría de los orbitales moleculares (OM). Las funciones de base o set de base intervienen en el modelamiento molecular de enlaces y ángulos químicos y son también implementadas en los softwares de química computacional.<sup>77</sup>

Los OM son funciones matemáticas que describen el comportamiento ondulatorio de los electrones en una molécula. Están formados por una combinación lineal de orbitales atómicos (OA) y son representados como regiones del espacio que contienen la densidad electrónica. Los orbitales moleculares son aproximaciones de la función de onda y son una teoría alterna a la de los enlaces de valencia. Entre las funciones de base más utilizadas están las que incluyen funciones de polarización de valencia,

como DZVP y TZVP (resultados muy exactos).<sup>91</sup>

#### 2.5.4.4. Optimización

Es el proceso de ajustar la geometría de una molécula para obtener una conformación en un estado estacionario de interés. Por lo tanto, la optimización es el proceso de encontrar estados reales de una molécula. La optimización para obtener el estado fundamental del sistema es también denominada minimización.<sup>72,92</sup>

El primer paso es el diseño de geometrías moleculares de partida o su obtención a partir de bases de datos. Las coordenadas atómicas de las moléculas son guardadas en archivos de entrada “inputs”, los cuales especifican además la carga y multiplicidad de las moléculas. La optimización de las estructuras se automatiza especificando una funcional y set de base. Los softwares especializados realizan los cálculos necesarios de la energía molecular mediante la construcción de matrices que pueden ser representadas como Superficies de Energía Potencial (PES). Los archivos de salida “outputs” contienen toda la información de los cálculos realizados en la molécula optimizada, incluyendo la energía del sistema.<sup>93</sup>

#### 2.5.4.5. Superficie de energía potencial (*PES*)

Es la representación gráfica de la relación entre la energía potencial de una molécula y sus coordenadas nucleares. La gráfica de *PES* es útil para determinar estructuras en estado fundamental y estados de transición en reacciones químicas de interés.<sup>72</sup>

La energía cambia en función a la posición (coordenadas) de los núcleos atómicos dentro de una molécula. De esta forma, una *PES* relaciona la energía potencial (fuerzas de interacción) con parámetros estructurales de todos los átomos de una molécula (figura 2.6): distancias de enlaces ( $r$ ), ángulos de enlaces y ángulos diedros ( $^\circ$ ). Es por esta razón que es también denominada hipersuperficie de energía potencial. Las fuerzas de interacción entre las partículas que constituyen una molécula determinan su configuración.<sup>78</sup>

Para calcular una *PES* se utiliza el método *SCF* (*Self-Consistent Field*), aplicado en las aproximaciones Hartree-Fock y *DFT*, en el cual la energía del sistema es calculada mediante una serie de ciclos hasta alcanzar el criterio de convergencia donde  $\Delta E=10^{-8}$  Hartree, un estado estacionario.<sup>72</sup>

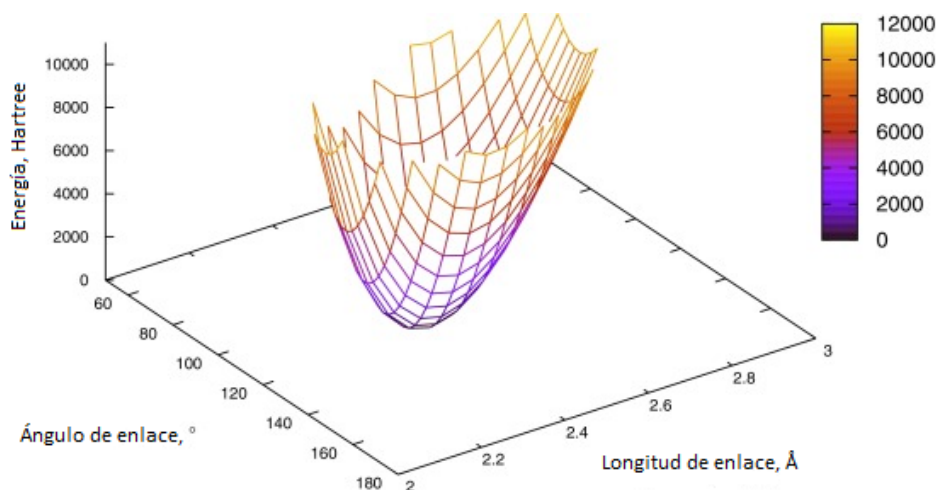


Figura 2.6: Segmento de una *PES* en la optimización molecular

- **Estados estacionarios en una *PES***

Un estado estacionario en una *PES* está representado por un punto de inflexión, idealmente una región plana. En este punto la  $\partial E/\partial r=0$  ( $r$ : coordenadas).<sup>72</sup>

Un estado fundamental en una *PES* es un mínimo global de energía (figura 2.7). Es el valor mínimo de energía encontrado y está representado como el valle más profundo, denominado pozo de potencial. En este punto, las longitudes de enlace, ángulos y frecuencias vibracionales se encuentran en equilibrio.<sup>77,82,87</sup>

Un estado excitado en una *PES* es un punto de ensilladura (figura 2.7), el punto máximo de energía que une dos mínimos globales.<sup>72</sup>

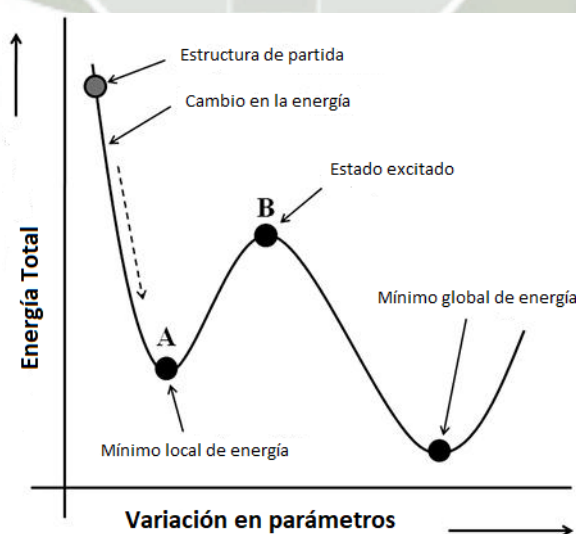


Figura 2.7: Estados de energía en una *PES*

- **Aproximación de Born-Oppenheimer**

La representación de una *PES* es posible gracias a esta aproximación, donde la distribución electrónica de una molécula se ajusta fácilmente a cualquier cambio en la posición de sus núcleos atómicos. Esta aproximación considera al núcleo como fijo respecto a los electrones. Debido a que el núcleo es aproximadamente 1800 veces más pesado que un electrón, su movimiento dentro de una molécula es despreciable.<sup>85</sup>

Permite separar los términos nucleares ( $T_n$  y  $V_{nn}$ ) de los términos electrónicos ( $T_{ee}$ ,  $V_{ne}$  y  $V_{ee}$ ), donde las fuerzas nucleares se tratan como una constante debido a sus coordenadas fijas. Por lo tanto, la energía total de un sistema puede ser calculada como la suma de la energía electrónica y la constante de repulsión nuclear.<sup>72,77,78,85</sup>

Como consecuencia de esta aproximación es que las moléculas están definidas por una geometría.

#### 2.5.4.6. Frecuencias vibracionales

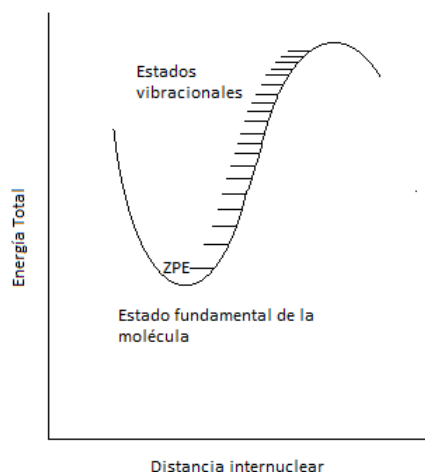
El cálculo de frecuencias vibracionales sirve para caracterizar el estado estacionario de una geometría como un estado fundamental o un estado de transición. Estas frecuencias son calculadas por medio de las segundas derivadas de la energía con respecto a sus parámetros geométricos.<sup>72</sup>

La energía vibracional es la vibración innata de una molécula, la cual es denominada energía del punto cero o *ZPE* (figura 2.8), por sus siglas en inglés. Están relacionadas con el movimiento translacional y rotacional de los átomos.<sup>72</sup>

Para encontrar el estado fundamental de una molécula, todas las frecuencias vibracionales deben ser positivas; en cambio, para determinar un estado de transición debe existir una única frecuencia negativa o imaginaria y el resto de frecuencias positivas.<sup>83</sup>

#### 2.5.4.7. Efectos de solvatación

Una optimización puede ser desarrollada en presencia de un solvente implícito, donde el soluto es ubicado en una cavidad dentro del campo de reacción de un solvente seleccionado. Este tipo de optimización es denominada como *SCRF* (Campo



**Figura 2.8:** Estados vibracionales en un pozo de potencial

de reacción autoconsistente) y suelen utilizarse dos modelos de solvatación. La opción *PMC* (Modelo Continuo Polarizable) es el más usado debido a su bajo coste computacional, ya que no considera las moléculas de solvente como moléculas individuales sino como un continuo polarizado. La opción *SMD* (Modelo de Solvatación de la densidad) es utilizada para cálculos de mayor exactitud, ya que incluye efectos estructurales del solvente.

### 2.5.5. Modelos *QSAR*

*QSAR* (Relación cuantitativa estructura-actividad) son modelos usados para predecir la actividad o reactividad de compuestos mediante la cuantificación de propiedades fisicoquímicas de estructuras moleculares.<sup>39,94,95</sup>

Los modelos *QSAR* han sido aplicados a la evaluación de la actividad antioxidante de numerosos compuestos fenólicos, basándose en los métodos *DFT* para realizar sus cálculos y trabajando de forma automatizada con un gran número de compuestos, radicales libres, solventes y diferentes condiciones del medio.<sup>95</sup>

Existen diversas estrategias computacionales para medir la capacidad antioxidante.<sup>5,27,28</sup>

#### 2.5.5.1. Propiedades de Reactividad intrínseca

Las estrategias computacionales basadas en la reactividad intrínseca miden la actividad antioxidante trabajando únicamente con el compuesto antioxidante. La

capacidad antioxidante es evaluada mediante la cuantificación y comparación de las propiedades de reactividad intrínseca de los compuestos. Estas propiedades están asociadas con determinados mecanismos de reacción. Entre las propiedades más utilizadas están:<sup>5,26,27,42</sup>

- **Entalpía de disociación de un enlace (*BDE*):**

Calcula la energía necesaria para la ruptura homolítica de un átomo de hidrógeno de un OH en una molécula. Se utiliza en la determinación del mecanismo *HAT*. Valores bajos de *BDE* se relacionan con una mayor capacidad antioxidante mediante esta vía, ya que resulta fácil la transferencia de un átomo de H a un radical libre.

$$BDE = H(Flav - O\bullet) + H(H\bullet) - H(Flav - OH) \quad (2.17)$$

- **Entalpía de Ionización (*IE*):**

Calcula la energía requerida para que un electrón sea removido de una molécula. Mide la resistencia de una molécula a perder un electrón. Se utiliza en la determinación del mecanismo *SET I*. Valores bajos de *IE* se relacionan con una mayor capacidad antioxidante por esta vía.

$$IE = H(Flav - OH^{\bullet+}) + H(e^-) - H(Flav - OH) \quad (2.18)$$

- **Afinidad electrónica (*EA*):**

Mide la capacidad de una molécula de incorporar un electrón y estabilizarse. Se utiliza en la determinación del mecanismo *SET II*. Valores altos de *EA* se relacionan con una mayor capacidad antioxidante por esta vía.

$$EA = H(Flav - OH) - H(Flav - OH^{\bullet-}) \quad (2.19)$$

- **Afinidad protónica (*PA*):**

Mide la capacidad de un compuesto de aceptar o retener un protón de H. Se expresa como el valor negativo del cambio de energía producido en una

reacción de protonación de una molécula neutra. Se utiliza en la determinación antioxidante por el mecanismo *SPLET* Y *SPLHAT*. Valores bajos de *PA* se relacionan con la facilidad de desprotonación de una molécula y selectividad por esta vía.

$$PA = H(\text{Flav} - O^-) + H(H^+) - H(\text{Flav} - OH) \quad (2.20)$$

- **Entalpía de disociación de un protón (*PDE*):**

Es similar a *PA*, la diferencia es que esta propiedad calcula la energía requerida para que una especie radicalaria catiónica se desprotone. Se utiliza en la determinación del segundo paso de reacción del mecanismo *SEPT*. Valores bajos de *PDE* se relacionan con la facilidad de desprotonación del radical ionizado.

$$PDE = H(\text{Flav} - O^\bullet) + H(H^+) - H(\text{Flav} - OH^{\bullet+}) \quad (2.21)$$

- **Entalpía de transferencia de un electrón (*ETE*):**

Es similar a *IE*, la diferencia es que esta propiedad calcula la energía requerida para que una especie desprotonada o aniónica done un electrón. Interviene en la determinación del segundo paso de reacción del mecanismo *SPLET*. Valores bajos de *ETE* se relacionan con una mayor capacidad antioxidante por esta vía.

$$ETE = H(\text{Flav} - O^\bullet) + H(e^-) - H(\text{Flav} - O^-) \quad (2.22)$$

Todas estas propiedades también pueden ser determinadas únicamente como energías, sin tomar en cuenta el efecto térmico de las reacciones.

Adicionalmente, las energías relativas de *IE* y *EA* pueden ser calculadas utilizando valores de flúor y sodio como electro-aceptor y electro-donador de referencia, respectivamente (ecuación 2.23 y 2.24). Con estos valores es posible determinar de forma cualitativa la capacidad de diferentes compuestos al actuar como donadores o aceptores de electrones. Este análisis se realiza mediante la construcción del gráfico *FEDAM* (*Full Electron Donor Acceptor Map*), en el cual los compuestos de inte-

rés toman una ubicación como buenos o malos candidatos antiradicalarios (figura 2.9).<sup>5,35</sup>

$$RIE = \frac{IE_{comp}}{IE_{Na}} \quad (2.23)$$

$$REA = \frac{EA_{comp}}{EA_F} \quad (2.24)$$

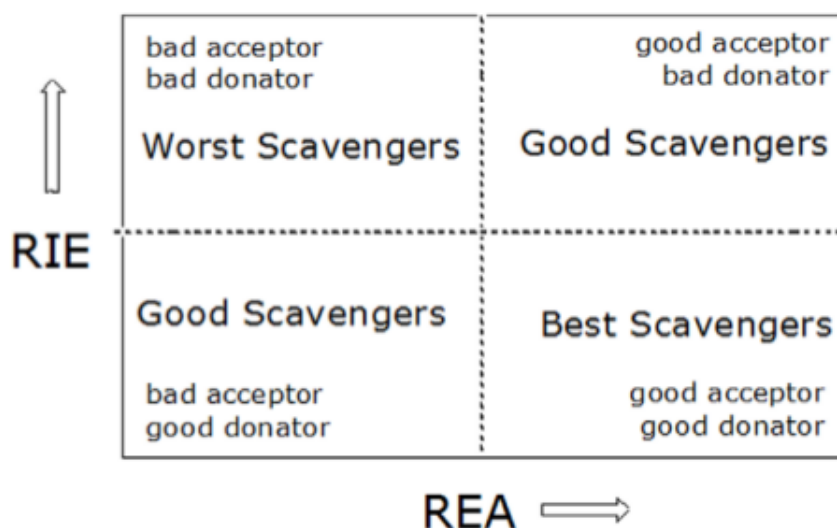


Figura 2.9: Gráfico FEDAM

### 2.5.5.2. Índices de reactividad química global

Los índices de reactividad química son descriptores mecanocuánticos que dan información sobre las propiedades reactivas de un compuesto.<sup>72,96</sup>

Permite relacionar la estructura de una molécula con su reactividad y estabilidad.<sup>94</sup>

Los descriptores de reactividad global se utilizan para conocer la reactividad de las moléculas como un todo. Normalmente se calculan mediante la aproximación de diferencia finita, la cual utiliza los valores de  $IE$  y  $EA$  de los sistemas electrónicos  $N$ ,  $N-1$  y  $N+1$ . También pueden ser calculados mediante la aproximación de Koopman, utilizando energías de  $HOMO$  (Orbital molecular más alto ocupado) y  $LUMO$  (Orbital molecular más bajo desocupado).<sup>94</sup> Se expresan como:

- **Potencial químico electrónico ( $\mu$ )**

Es una propiedad que mide la tendencia de un electrón de escapar de una nube electrónica en equilibrio.

$$\mu = -\frac{1}{2}(IE + EA) \quad (2.25)$$

- **Electronegatividad ( $\chi$ )**

Mide la tendencia de atraer cargas negativas. Se define como el valor negativo del potencial químico electrónico.

$$\chi = -\mu \quad (2.26)$$

- **Dureza global ( $\eta$ )**

Es la resistencia a la transferencia de carga. Está relacionada con la disminución de la reactividad química.<sup>84</sup>

$$\eta = \frac{1}{2}(IE - EA) \quad (2.27)$$

- **Blandura (S)**

Es la facilidad a la transferencia de carga. Es la facilidad de una molécula de sufrir cambios en la densidad electrónica, lo que la hace más reactiva. Está relacionada con el incremento de la reactividad química.

$$S = \frac{1}{2\eta} \quad (2.28)$$

- **Electrofilicidad ( $\omega$ )**

Mide la estabilización de la energía cuando un sistema adquiere una carga negativa. Está relacionada con la estabilidad de una molécula luego de aceptar un electrón en una reacción.

$$\omega = \frac{\mu^2}{2\eta} \quad (2.29)$$

### 2.5.5.3. Densidad de Espín

La densidad de espín es calculada como la diferencia de la densidad electrónica entre electrones de espín alfa y espín beta. Permite calcular la estabilidad de especies radicalarias mediante la distribución de la densidad de espín a lo largo de toda la estructura molecular, es decir, de la deslocalización electrónica.

La deslocalización electrónica permite la estabilización de las moléculas mediante efectos de resonancia y conjugación. Los átomos radicalizados son los que contienen una mayor densidad de espín.<sup>28,41,42</sup>

En moléculas estables, la distribución de la densidad de espín en todos los átomos es igual a cero debido a que todos sus orbitales se encuentran apareados y el valor total en la molécula también es cero. En cambio, en moléculas radicalarias, la distribución de la densidad de espín no es la misma en todos los átomos y varía dependiendo del orbital desapareado. La densidad total de un espín es igual a 1 y la del otro espín es igual a -1, por lo que el valor total en una especie radicalaria también suma cero.<sup>28</sup>

### 2.5.6. Ventajas de la química computacional

Hoy en día muchos investigadores complementan sus estudios experimentales con métodos *in silico* debido a los siguientes aspectos:<sup>32,33,37,40,72,76,83</sup>

- Los métodos teóricos son significativamente menos costosos y ambientalmente más seguros.
- Logran predecir con exactitud y precisión los resultados que se hallan experimentalmente, de manera que acortan pasos en la investigación. Existen en particular muchos estudios que sustentan la alta correlación encontrada entre los métodos teóricos y experimentales en la investigación de antioxidantes.
- Los mecanismos de reacción de las moléculas pueden ser modelados y calculados computacionalmente a través de diferentes propiedades químicas.
- Logra cubrir e interpretar aspectos como la relación estructura-reactividad y reactividad -cinética de moléculas de interés.

- A través de la química computacional se analizan modelos teóricos o estándar de lo que sucede en un experimento dado. Estos modelos ayudan a consolidar resultados experimentales: contribuyen a ajustar variables, parámetros y posibles errores experimentales que en diferentes ensayos de un mismo objeto de estudio generan resultados poco precisos y difíciles de interpretar.

## 2.6. Análisis de Correlación lineal simple de Pearson

Es un método estadístico que mide e interpreta la fuerza de relación entre un conjunto de variables. El coeficiente de correlación de Pearson ( $r$ ) es el valor matemático que mide la relación lineal que existe entre dos variables aleatorias (ecuación 2.30). Los valores que puede tomar este coeficiente están comprendidos entre -1 y +1, dependiendo de la fuerza y la dirección de la correlación (tabla 2.2). El signo positivo define una correlación directa, donde al aumentar la magnitud de una variable, la otra también aumenta; en cambio, el signo negativo define una correlación inversa, donde al aumentar la magnitud de una variable, la otra disminuye. La relación entre dos variables no necesariamente expresa una relación de causa-efecto. El coeficiente de correlación de Pearson se desglosa a partir de una serie de ecuaciones matemáticas, sin embargo, puede ser calculado computacionalmente mediante diferentes softwares.<sup>97</sup>

$$r = \frac{\sum(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum(x_i - \bar{x})^2} \sqrt{\sum(y_i - \bar{y})^2}} \quad (2.30)$$

**Tabla 2.2:** Interpretación del coeficiente de correlación de Pearson

Valor de r	Dirección y fuerza de correlación
+1.0	Directa perfecta
+0.8	Directa fuerte
+0.5	Directa moderada
+0.2	Directa débil
0.0	Sin relación
-0.2	Inversa débil
-0.5	Inversa moderada
-0.8	Inversa fuerte
-1.0	Inversa perfecta

# Capítulo 3

## Metodología

### 3.1. Detalles Computacionales

#### HARDWARE:

- Workstation con 64GB de memoria RAM y procesador de 16 núcleos; 3 discos duros de 1, 4 y 6 TB; 2 Tarjetas Gráficas NVIDIA GeForce GTX 1080.

#### SOFTWARE:

- Gaussian 09
- GaussView 5.0.8
- Microsoft Excel 2013
- Gedit

#### SERVIDORES:

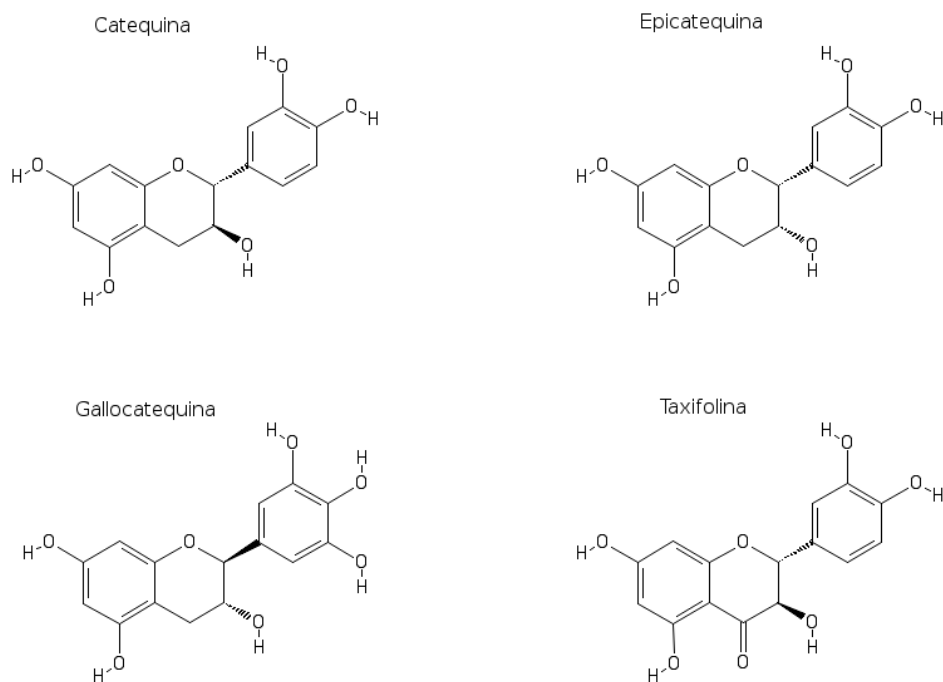
- Pubchem Search
- Pubchem Sketcher V2.4

### 3.2. Métodos

#### 3.2.1. Generación de geometrías moleculares de partida

1. Se recopilaron los nombres de los flavonoides reportados en las hojas de *Annona muricata* a partir de un artículo de revisión desarrollado por Coria-Téllez

y colaboradores en el 2016.<sup>12</sup> Las estructuras químicas de los flavonoides (figura 3.1 a la 3.5), incluyendo también la del compuesto Trolox (figura 3.6), fueron extraídas de la base de datos Pubchem Search del *National Center for Biotechnology Information (NCBI)*.



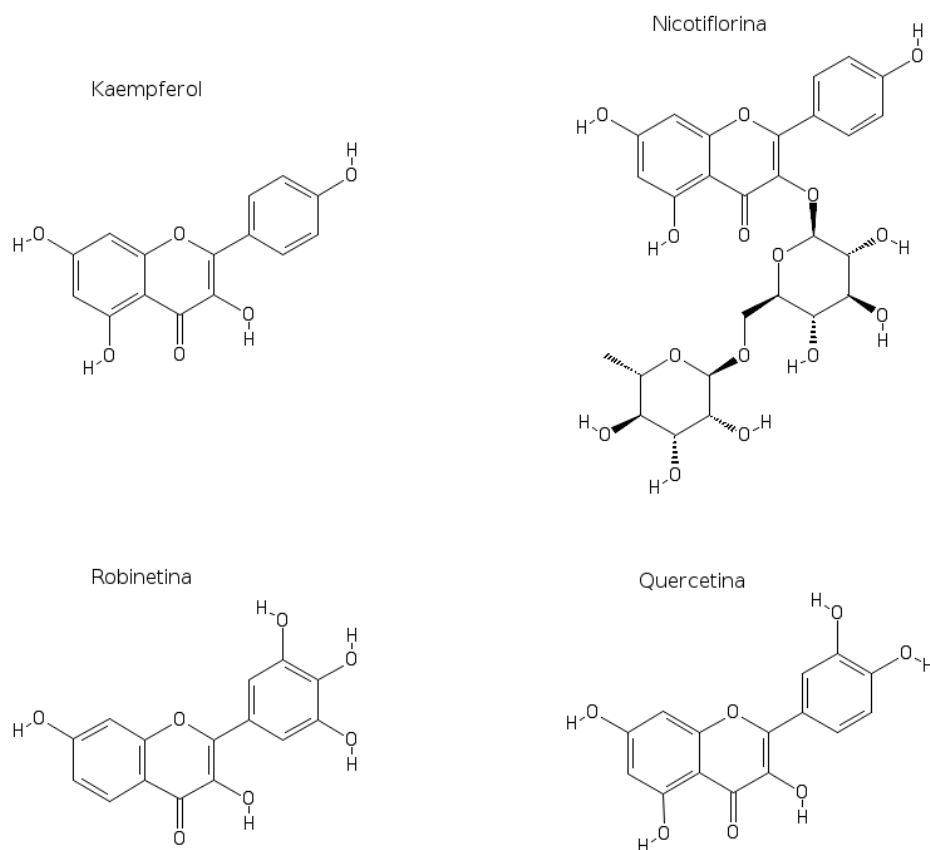
**Figura 3.1:** Estructuras químicas de los flavanoles y flavanonoles presentes en las hojas de *A. muricata*

El Trolox fue utilizado en este estudio como estándar antioxidante de referencia, aplicando los mismos métodos que en los flavonoides analizados.

2. Se construyeron todas las geometrías moleculares de partida en coordenadas “xyz” utilizando el software de edición y visualización GaussView 5.0.8. Las herramientas del programa fueron utilizadas para obtener geometrías de partida en base a valores estimados de longitudes de enlace y ángulos diedros.

### 3.2.2. Optimización de las estructuras iniciales

1. Las estructuras construidas fueron minimizadas en fase gas o vacío mediante el programa Gaussian 09. Se utilizó la funcional de la densidad wB97XD, debido a que contiene términos de largo alcance en su formulación y genera un buen



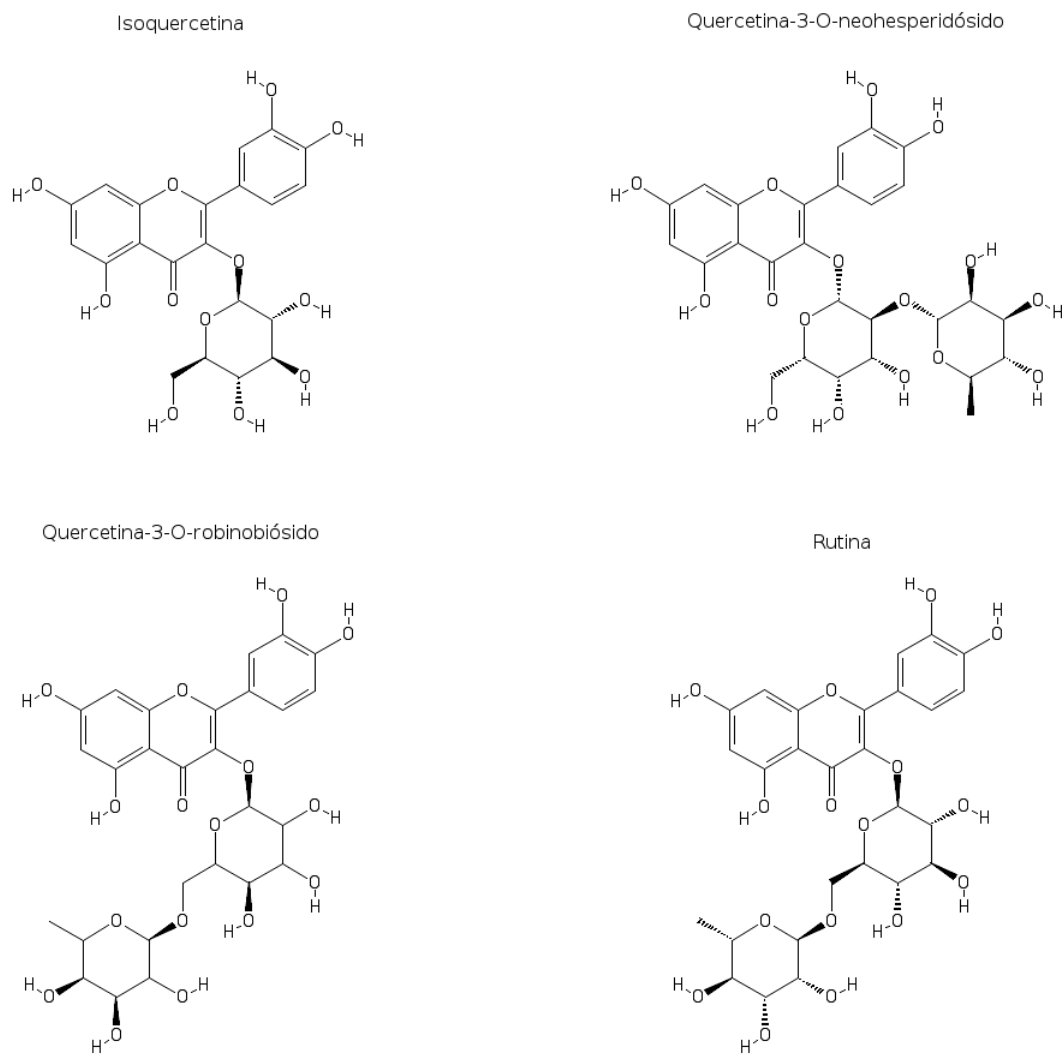
**Figura 3.2:** Estructuras químicas de los flavonoles presentes en las hojas de *A. muricata*

efecto de dispersión de las moléculas. La función de base utilizada fue TZVP. La carga y multiplicidad de las moléculas fueron especificadas como 0 y 1, respectivamente. Se realizaron además los cálculos de frecuencias vibracionales para la confirmación del mínimo global en cada sistema molecular.

2. Para incluir el efecto de solvatación, se realizó una reoptimización de las moléculas en fase solvente implícito o fase acuosa a 298.15 K y pH fisiológico de 7.4. Las estructuras solvatadas se obtuvieron con el modelo *SMD* en Gaussian 09, utilizando la misma funcional, set de base y realizando cálculo de frecuencias. Se registraron los valores de energía total.

### 3.2.3. Optimización de las estructuras iónicas y radicalarias

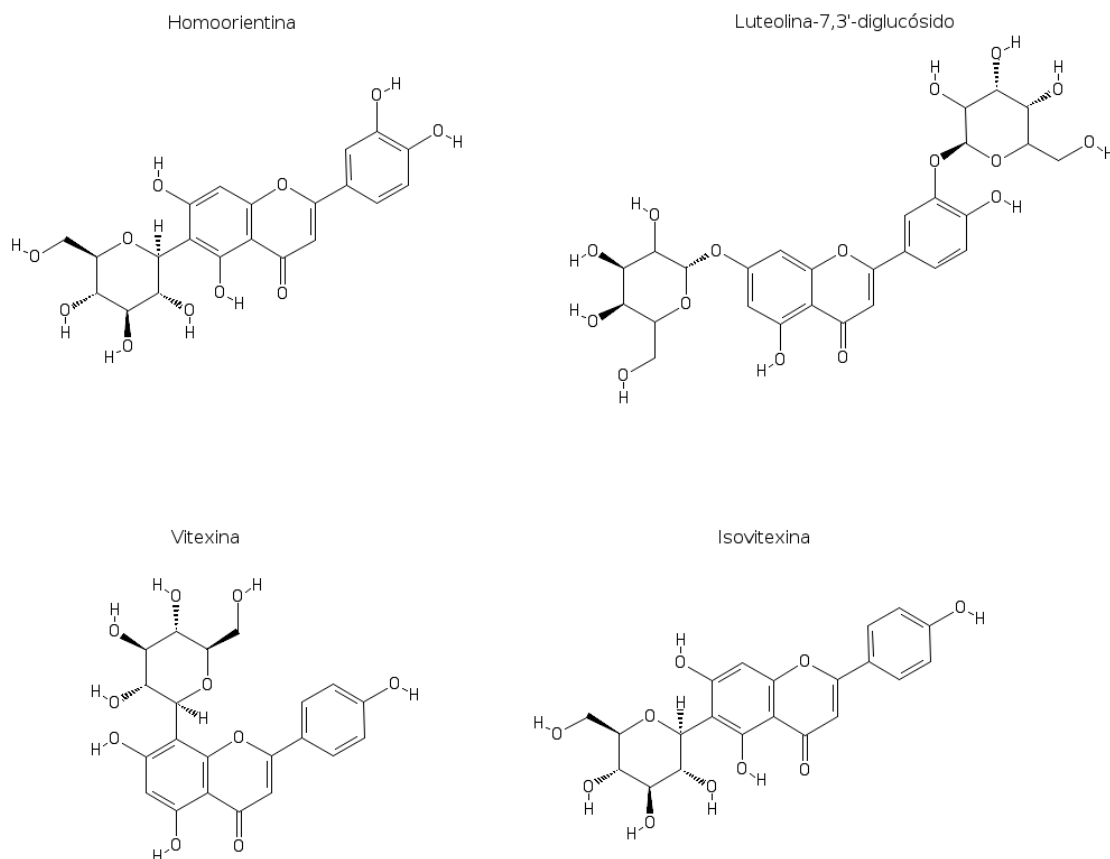
Las estructuras iónicas y radicalarias de los flavonoides, que son los intermedios y productos resultantes de las diferentes vías de reacción *HAT*, *SET*, *SEPT* y *SPLET*,



**Figura 3.3:** Estructuras químicas de los flavonoles glicosilados presentes en las hojas de *A. muricata*

fueron diseñadas modificando los flavonoides iniciales optimizados (tabla 3.1):

1. Los radicales catiónicos y aniónicos ( $\text{Flav-OH}^{\bullet+}$  y  $\text{Flav-OH}^{\bullet-}$ ), que son producidos en las vías *SET* y *SEPT*, se obtuvieron cambiando únicamente la carga y multiplicidad en los inputs.
2. Los radicales neutros ( $\text{Flav-O}^{\bullet}$ ), que son producidos en las vías *HAT*, *SEPT* y *SPLET*, se obtuvieron removiendo el átomo de hidrógeno de cada grupo hidroxilo fenólico por separado, generando un número de derivados radicalarios como grupos OH tiene cada estructura.
3. Los flavonoides aniónicos ( $\text{Flav-O}^-$ ), que son producidos en la vía *SPLET*, se obtuvieron mediante la desprotonación del grupo hidroxilo fenólico más activo



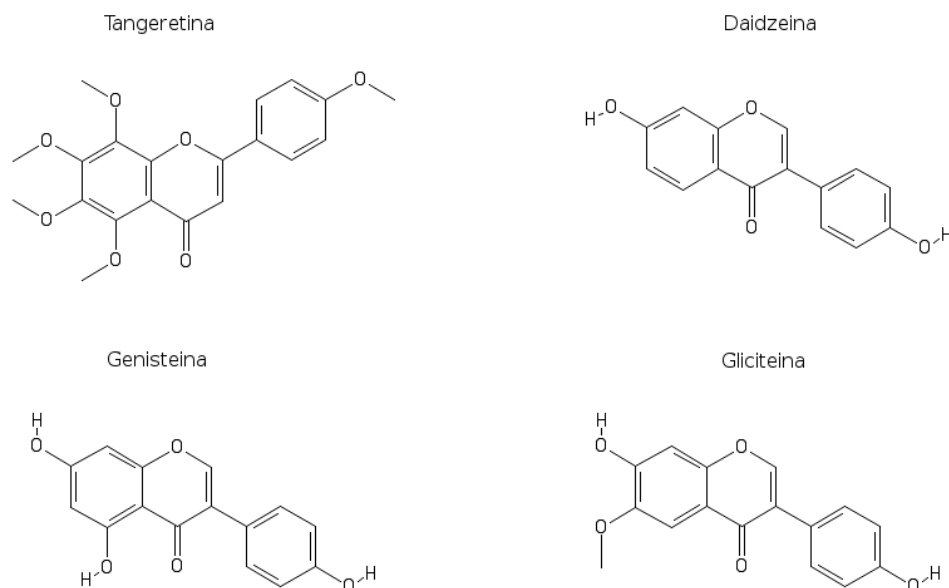
**Figura 3.4:** Estructuras químicas de las flavonas glicosilas presentes en las hojas de *A. muricata*

en cada flavonoide.

Se realizó la optimización y cálculo de frecuencias de todas las estructuras modificadas en Gaussian 09 tanto en vacío como en solvente, utilizando la funcional wB97XD, la función de base TZVP y cálculo de frecuencias. Se registraron los valores de energía total.

**Tabla 3.1:** Especificaciones de las estructuras iónicas y radicalarias generadas por la modificación de los flavonoides iniciales optimizados

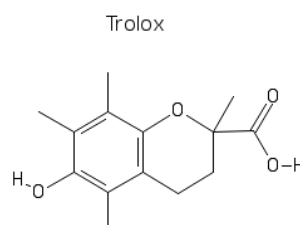
Mecanismo	Estructuras generadas	Carga	Multiplicidad	Tipo de compuesto
<i>HAT</i>	Flav-O <sup>•</sup>	0	2	producto
<i>SET I</i>	Flav-OH <sup>•+</sup>	1	2	producto
<i>SET II</i>	Flav-OH <sup>•-</sup>	-1	2	producto
<i>SEPT</i>	Flav-OH <sup>•+</sup>	1	2	intermedio
<i>SEPT</i>	Flav-O <sup>•</sup>	0	2	producto
<i>SPLET</i>	Flav-O <sup>-</sup>	-1	1	intermedio
<i>SPLET</i>	Flav-O <sup>•</sup>	0	2	producto



**Figura 3.5:** Estructuras químicas de las flavonas e isoflavonas presentes en las hojas de *A. muricata*

### 3.2.4. Evaluación de propiedades de reactividad intrínseca

1. Utilizando las estructuras iniciales y las estructuras radicalarias y aniónicas optimizadas en fase gas y en fase acuosa, se calcularon las siguientes propiedades de reactividad intrínseca: Entalpía de ionización ( $IE$ ) (ecuación 2.18), afinidad electrónica ( $EA$ ) (ecuación 2.19), entalpía de disociación de un enlace ( $BDE$ ) (ecuación 2.17), afinidad protónica ( $PA$ ) (ecuación 2.20), entalpía de disociación de un protón ( $PDE$ ) (ecuación 2.21) y entalpía de transferencia de un electrón ( $ETE$ ) (ecuación 2.22).



**Figura 3.6:** Estructura química del Trolox

2. Adicionalmente, se construyó un mapa *FEDAM* (*Full Electron Donator Ac-*

*ceptor Map*) utilizando como estándares de referencia los valores de los átomos de flúor (F) y sodio (Na) calculados bajo el mismo enfoque computacional. Se determinó la entalpía de ionización relativa (*RIE*) y la afinidad electrónica relativa (*REA*) de cada flavonoide (ecuaciones 2.23 y 2.24).

### **3.2.5. Correlación de las propiedades calculadas con porcentajes de actividad antioxidante reportados experimentalmente**

Se obtuvieron los porcentajes de actividad antioxidante (%AA) experimentales reportados en algunos flavonoides a partir de la investigación realizada por S.Burda y W. Oleszek en el 2001,<sup>98</sup> y se compararon con las propiedades termoquímicas *BDE*, *IE* y *ETE* calculadas en este estudio. Se hallaron los coeficientes de correlación de Pearson utilizando las funciones estadísticas de Microsoft Excel.

### **3.2.6. Evaluación de índices de reactividad global**

Mediante la aproximación de diferencia finita se calcularon los índices de reactividad global: Potencial químico (ecuación 2.25), electronegatividad (ecuación 2.26), dureza (ecuación 2.27), blandura (ecuación 2.28) y electrofilicidad (ecuación 2.29).

### **3.2.7. Evaluación del enlace de hidrógeno intramolecular en el sitio activo**

Para evaluar la capacidad de estabilización al formar un enlace intramolecular de hidrógeno en el sitio activo, se midieron las longitudes entre el O radicalizado y el grupo OH vecino en las estructuras radicalarias. Estas distancias fueron comparadas con las obtenidas entre grupos OH vecinos en las estructuras iniciales. Se utilizaron las herramientas del programa GaussView 5.0.8.

### **3.2.8. Evaluación de la distribución de densidad de espín**

Se determinaron los valores de densidad de espín de los diferentes átomos de cada flavonoide radicalario mediante cálculos de Hirshfeld (opción Pop=Hirshfeld)

en Gaussian 09, utilizando el mismo enfoque computacional, tanto en vacío como en solvente. Se extrajeron los mayores valores de densidad de espín entre átomos. Se usó la opción CUBEGEN para visualizar las superficies de distribución de la densidad de espín a lo largo de las estructuras moleculares.



## Capítulo 4

# Resultados y Discusión

### 4.1. Generación de geometrías moleculares de partida

El estudio se llevó a cabo con un total de 20 flavonoides reportados en las hojas de *Annona muricata*, cuyas características estructurales fueron clasificadas de acuerdo a lo presentado en la tabla 4.1.

### 4.2. Optimización de las estructuras iniciales

Las estructuras iniciales o neutras optimizadas en fase gas están mostradas en el anexo A figura A.1, A.2 y A.3; las optimizadas en fase solvente implícito o fase acuosa a 298.15 K y pH fisiológico de 7.4, en el anexo A figuras A.4, A.5 y A.6. Estas geometrías corresponden a los sustratos de reacción antioxidante.

Se verificó que todas las estructuras optimizadas se encuentran en un mínimo global (con sólo frecuencias vibracionales positivas), lo cual determina su estado fundamental (véase entalpías totales en el anexo D tablas D.1 y D.2).

Las estructuras moleculares optimizadas en fase gas o vacío fueron usadas para evaluar la actividad intrínseca de los flavonoides sin la influencia de un medio. De igual forma se consideró el efecto de la solvatación con agua sobre la actividad antioxidante, seleccionándose este solvente debido a que es el medio más abundante a nivel celular, es un solvente universal y es también comúnmente utilizado en la extracción de flavonoides junto con etanol o metanol.

**Tabla 4.1:** Características estructurales específicas de los 20 flavonoides presentes en las hojas de *A. muricata*

Flavonoide	Glúcidos	N° grupos OH	Posiciones OH					
			3	5	7	3'	4'	5'
<b>Flavanol</b>								
Catequina	-	5	x	x	x	x	x	
Epicatequina	-	5	x	x	x	x	x	
Gallocatequina	-	6	x	x	x	x	x	x
<b>Flavanonol</b>								
Taxifolina	-	5	x	x	x	x	x	
<b>Flavonol</b>								
Kaempferol	-	4	x	x	x			x
Nicotiflorina (Kaempferol 3-O-rutinósido)	di	3		x	x			x
Robinetina	-	5	x		x	x	x	x
Quercetina	-	5	x	x	x	x	x	x
Isoquercetina (Quercetina 3-O-glucósido)	mono	4		x	x	x	x	x
Quercetina 3-O-neohesperidósido	di	4		x	x	x	x	x
Quercetina 3-O-robinobiósido	di	4		x	x	x	x	x
Quercetina 3-O-rutinósido	di	4		x	x	x	x	x
<b>Flavona</b>								
Homoorientina (Luteolina 6-C-glucósido)	mono	4		x	x	x	x	
Luteolina 7,3'-di-O-glucósido	2 mono	2		x				x
Vitexina (Apigenina 8-C-glucósido)	mono	3		x	x			x
Isovitexina (Apigenina 6-C-glucósido)	mono	3		x	x			x
Tangeretina	-	0						
<b>Isoflavona</b>								
Daidzeina	-	2				x		x
Genisteina	-	3		x	x			x
Gliciteina	-	2				x		x

### 4.3. Optimización de las estructuras iónicas y radicalarias

Las estructuras resultantes aniónicas y radicalarias optimizadas en fase gas y fase acuosa están mostradas en el anexo A figura A.7 a la A.62. Estas últimas geometrías corresponden a los intermedios y productos de reacción de los mecanismos *HAT*, *SET I*, *SET II*, *SEPT* Y *SPLET*.

Se verificó que todas estas estructuras optimizadas se encuentran también en un mínimo global (con sólo frecuencias vibracionales positivas), lo cual determina su estado fundamental (véase entalpías totales en el anexo D tablas D.1, D.2 y D.3).

#### 4.4. Evaluación de propiedades de reactividad intrínseca

Las propiedades  $BDE$ ,  $IE$ ,  $EA$ ,  $PDE$  y  $PA$  fueron determinadas para evaluar la reactividad asociada a la capacidad antioxidante de los flavonoides en los mecanismos  $HAT$ ,  $SET$ ,  $SEPT$  y  $SPLET$ . La cuantificación de estas propiedades sirve como una medida teórica para clasificar a los flavonoides según su actividad y permite predecir cuál es el mecanismo de reacción energéticamente más factible. Para esto, se consideró que una variación de más de 3 kcal/mol representa una diferencia significativa en la reactividad y la actividad antioxidante<sup>99</sup>, de modo que fue posible predecir los mejores candidatos que actúan por las diferentes vías y la vía de reacción energéticamente priorizada en cada medio.

Las entalpías del  $H^\bullet$ ,  $H^+$  y  $e^-$  utilizadas en la formulación de estas propiedades fueron calculadas con el mismo enfoque computacional.

- En fase gas las entalpías utilizadas fueron:

$$H(H^\bullet) = -0.5003 \text{ Hartree } (-313.9 \text{ kcal/mol})$$

$$H(H^+) = -0.2693 \text{ Hartree } (-169.012 \text{ kcal/mol})$$

$$H(e^-) = 0.0952 \text{ Hartree } (59.75 \text{ kcal/mol}).$$

- En fase acuosa las entalpías de solvatación utilizadas fueron:

$$H(H^\bullet) = -0.4981 \text{ Hartrees } (-312.583 \text{ kcal/mol})$$

$$H(H^+) = -0.19 \text{ Hartree } (-119.2 \text{ kcal/mol})$$

$$H(e^-) = 0.0914 \text{ Hartrees } (57.32 \text{ kcal/mol}).$$

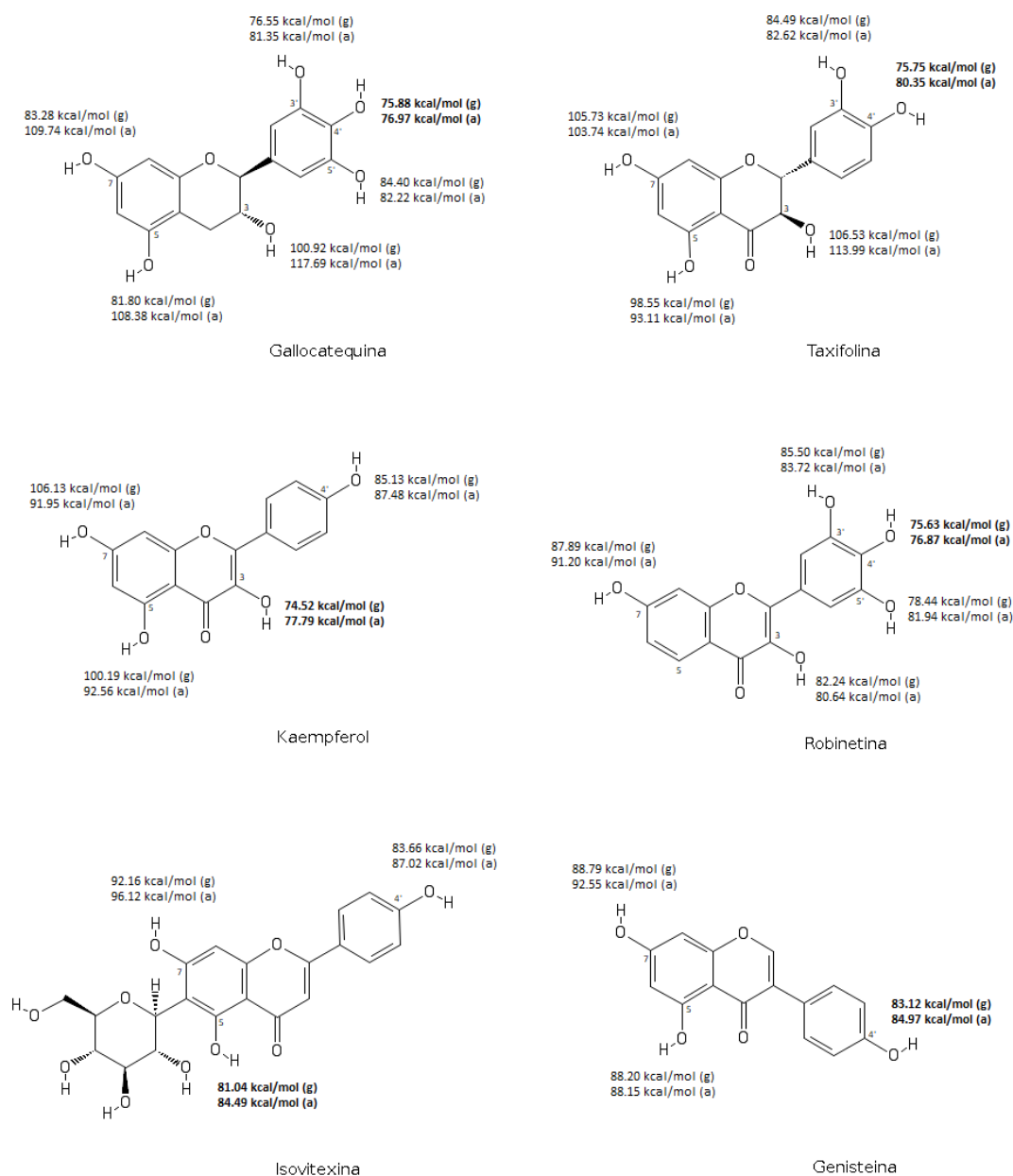
La abstracción del átomo de H de cada grupo OH fenólico (estructuras optimizadas en el anexo A figura A.7 a la A.44) y el cálculo de sus  $BDE$  permitieron determinar los sitios activos o sitios de radicalización de los flavonoides. En la tabla 4.2 se presentan los valores de  $BDE$  de los diferentes grupos OH fenólicos. El mínimo valor de  $BDE$  en una molécula es la energía mínima requerida para la ruptura homolítica de un grupo OH. Por lo tanto, el OH con  $BDE$  mínimo es más susceptible a este tipo de ruptura de enlace y tiene mayor facilidad de transferir un átomo de H a una especie radicalaria, lo que lo convierte en sitio activo de reacciones antioxidantes.

**Tabla 4.2:** *BDE* (en kcal/mol) de los diferentes grupos OH presentes en los flavonoides

Flavonoide	<i>BDE</i>		Flavonoide	<i>BDE</i>	
	Gas	Acuosa		Gas	Acuosa
Catequina			Epicatequina		
3-OH	128.76	105.70	3-OH	103.60	106.10
5-OH	111.58	85.00	5-OH	83.48	108.80
7-OH	112.07	84.89	7-OH	83.40	84.80
3'-OH	112.15	82.33	3'-OH	84.89	81.81
4'-OH	102.87	79.71	4'-OH	75.55	79.19
Gallocatequina			Taxifolina		
3-OH	100.92	117.69	3-OH	106.53	113.99
5-OH	81.80	108.38	5-OH	98.55	93.11
7-OH	83.28	109.74	7-OH	105.73	103.74
3'-OH	76.55	81.35	3'-OH	84.49	82.62
4'-OH	75.88	76.97	4'-OH	75.75	80.35
5'-OH	84.40	82.22			
Kaempferol			Nicotiflorina		
3-OH	74.52	77.79	5-OH	100.56	93.83
5-OH	100.19	92.56	7-OH	87.41	92.50
7-OH	106.13	91.95	4'-OH	84.91	88.09
4'-OH	85.13	87.48			
Robinetina			Quercetina		
3-OH	82.24	80.64	3-OH	83.28	79.85
7-OH	87.89	91.20	5-OH	85.11	86.75
3'-OH	85.50	83.72	7-OH	87.71	91.59
4'-OH	75.63	76.87	3'-OH	84.74	83.11
5'-OH	78.44	81.94	4'-OH	73.67	78.95
Isoquercetina			Quer. 3-O-neo.		
5-OH	85.00	87.51	5-OH	101.05	94.12
7-OH	87.43	92.33	7-OH	90.23	93.12
3'-OH	83.81	83.00	3'-OH	85.57	83.68
4'-OH	74.41	80.25	4'-OH	76.69	81.18
Quer. 3-O-rob.			Rutina		
5-OH	87.68	88.38	5-OH	87.28	88.30
7-OH	88.30	92.59	7-OH	87.74	92.51
3'-OH	84.35	83.64	3'-OH	84.04	83.60
4'-OH	74.81	80.54	4'-OH	75.16	81.18
Homoorientina			Lut. 7,3'-di-O-g.		
5-OH	81.05	84.30	5-OH	85.05	87.83
7-OH	92.42	96.17	4'-OH	81.45	83.10
3'-OH	85.12	83.53			
4'-OH	74.77	80.14			
Vitexina			Isovitexina		
5-OH	86.57	88.87	5-OH	81.04	84.49
7-OH	86.54	92.33	7-OH	92.16	96.12
4'-OH	84.12	86.17	4'-OH	83.66	87.02
Daidzeina			Genisteina		
7-OH	87.75	91.80	5-OH	88.20	88.15
4'-OH	83.23	85.30	7-OH	88.79	92.55
			4'-OH	83.12	84.97
Gliciteina			Trolox		
7-OH	87.65	86.78	1-OH	105.54	83.35
4'-OH	83.06	85.19	6-OH	74.88	75.73

De acuerdo a la tabla 4.2, el grupo 4'-OH del anillo B obtuvo el mínimo valor

de *BDE* en la mayoría de los sistemas, tendiendo a actuar como sitio activo tanto en fase gas como en fase acuosa. Los flavonoides kaempferol e isovitexina (apigenina 6-C-glucósido) presentaron sitios activos distintos al resto, con valores mínimos de *BDE* en los grupos 3-OH (anillo C) y 5-OH (anillo A), respectivamente (figura 4.1).



**Figura 4.1:** Geometrías y *BDE* de los grupos OH de algunos flavonoides representativos de cada clase. (g): En fase gas, (a): En fase acuosa

El grupo 4'-OH ha sido también identificado como el grupo más activo en otros compuestos fenólicos analizados en investigaciones similares<sup>26</sup>, indicando que el anillo B, en comparación con el anillo A y C, es más susceptible a un ataque radicalario y

muestra una mayor actividad antioxidante. Además, se conoce actualmente que un mismo grupo OH de un flavonoide está asociado normalmente con la mayor actividad antiradicalaria en las diferentes vías de reacción.

En la tabla 4.3 se muestran las entalpías relativas ( $\Delta H$ ) respecto al mínimo valor de *BDE* en cada sistema. De acuerdo a los  $\Delta H$  en fase gas, el resto de grupos OH fenólicos superan al *BDE*<sub>mín</sub> en un rango de 0.7-31.6 kcal/mol, dependiendo de cada flavonoide. De los cuales, según las referencias indicadas anteriormente, los que lo superan en menos de 3 kcal/mol y tienen una posición cercana al sitio activo, pueden ser considerados como sitios alternativos de reacción. Este caso aparece en los flavonoides galocatequina (3'-OH) y robinetina (5'-OH). En fase acuosa, los *BDE* del resto de grupos OH tienden a disminuir, en especial en el grupo 3'-OH, el cual puede actuar como sitio alternativo de reacción en las flavonas catequina y epicatequina, todos los flavonoles glicosídicos de quercetina y el flavonol taxifolina. En el caso del aglicón quercetina, el grupo 3-OH puede ser un sitio alternativo de reacción, con sólo 0.9 kcal/mol de diferencia del grupo 4'-OH.

Es posible que estos OH alternativos posean una actividad antioxidante muy similar a la del sitio activo y que cualquiera de ellos pueda reaccionar dependiendo de la proximidad del radical libre. Esta idea se apoya en que algunos estudios teóricos han trabajado con dos conformeros estables distintos de un mismo flavonoide y han reportado actividades similares entre ambos, siendo posible que coexistan en una mezcla; este es el caso de los flavonoides epicatequina y quercetina.<sup>34,37</sup> Se podría deducir entonces que los flavonoides que poseen más de un grupo OH energéticamente disponible tienen también mayor posibilidad de reaccionar con otros radicales libres o con las formas radicalarias de sí mismos, produciendo quinonas estables como producto final. Esto significaría una ventaja en algunos flavonoides sobre su estabilidad luego de una reacción antioxidante; sin embargo, esto aún debe ser probado y discutido a mayor profundidad.

Pueden considerarse entonces al sitio activo y a un grupo OH alternativo cercano como la región de mayor reactividad, en la cual los efectos de resonancia y la redistribución espacial de los hidrógenos podrían estar involucrados.

**Tabla 4.3:**  $\Delta H$  (en kcal/mol) de los *BDEs* calculados

Radical	$\Delta H$		Radical	$\Delta H$	
	Gas	Acuosa		Gas	Acuosa
Catequina			Epicatequina		
3-OH	25.9	26.0	3-OH	28.1	26.9
5-OH	8.7	5.3	5-OH	7.9	29.6
7-OH	9.2	5.2	7-OH	7.9	5.6
3'-OH	9.3	2.6	3'-OH	9.3	2.6
4'-OH	0.0	0.0	4'-OH	0.0	0.0
Gallocatequina			Taxifolina		
3-OH	25.0	40.7	3-OH	30.8	33.6
5-OH	5.9	31.4	5-OH	22.8	12.8
7-OH	7.4	32.8	7-OH	30.0	23.4
3'-OH	0.7	4.4	3'-OH	8.7	2.3
4'-OH	0.0	0.0	4'-OH	0.0	0.0
5'-OH	8.5	5.2			
Kaempferol			Nicotiflorina		
3-OH	0.0	0.0	5-OH	15.6	5.7
5-OH	25.7	14.8	7-OH	2.5	4.4
7-OH	31.6	14.2	4'-OH	0.0	0.0
4'-OH	10.6	9.7			
Robinetina			Quercetina		
3-OH	6.6	3.8	3-OH	9.6	0.9
7-OH	12.3	14.3	5-OH	11.4	7.8
3'-OH	9.9	6.9	7-OH	14.0	12.6
4'-OH	0.0	0.0	3'-OH	11.1	4.2
5'-OH	2.8	5.1	4'-OH	0.0	0.0
Isoquercetina			Quer. 3-O-neo.		
5-OH	10.6	7.3	5-OH	24.4	12.9
7-OH	13.0	12.1	7-OH	13.5	11.9
3'-OH	9.4	2.8	3'-OH	8.9	2.5
4'-OH	0.0	0.0	4'-OH	0.0	0.0
Quer. 3-O-rob.			Rutina		
5-OH	12.9	7.8	5-OH	12.1	7.1
7-OH	13.5	12.0	7-OH	12.6	11.3
3'-OH	9.5	3.1	3'-OH	8.9	2.4
4'-OH	0.0	0.0	4'-OH	0.0	0.0
Homoorientina			Lut. 7,3'-di-O-g.		
5-OH	6.3	4.2	5-OH	3.6	4.7
7-OH	17.6	16.0	4'-OH	0.0	0.0
3'-OH	10.4	3.4			
4'-OH	0.0	0.0			
Vitexina			Isovitexina		
5-OH	2.4	2.7	5-OH	0.0	0.0
7-OH	2.4	6.2	7-OH	11.1	11.6
4'-OH	0.0	0.0	4'-OH	2.6	2.5
Daidzeina			Genisteina		
7-OH	4.5	6.5	5-OH	5.1	3.2
4'-OH	0.0	0.0	7-OH	5.7	7.6
			4'-OH	0.0	0.0
Gliciteina			Trolox		
7-OH	4.6	1.6	1-OH	30.7	7.6
4'-OH	0.0	0.0	6-OH	0.0	0.0

Por otro lado, el resto de grupos OH que presentan valores de *BDE* superiores al

$BDE_{min}$  en más de 3 kcal/mol tienen un rol menos importante sobre la actividad antioxidante. Este es el caso de los grupos 5-OH y 7-OH del anillo A en la mayoría de los flavonoides. A pesar de que los grupos 5-OH y 7-OH en vitexina, y el grupo 4'-OH en isovitexina, poseen valores de  $\Delta H$  inferiores a 3kcal/mol, sus posiciones se encuentran distantes del grupo OH considerado como más reactivo, por lo que no son considerados como sitios alternativos de reacción.

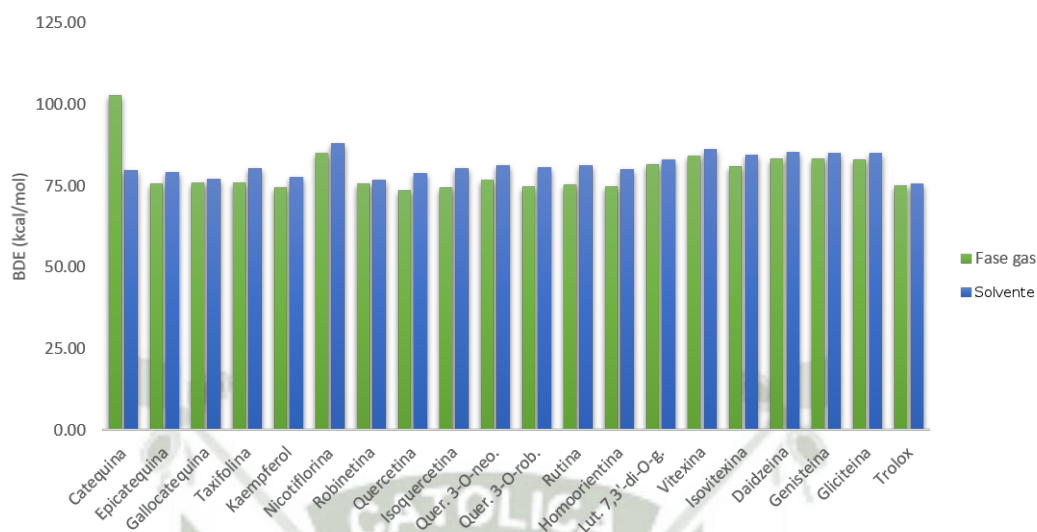
En la tabla 4.4 se muestran los valores de  $BDE$  de los sitios activos en fase gas y en fase acuosa. Los menores valores de  $BDE$  pertenecen a los flavonoides que poseen mayor facilidad de transferir un átomo de H a una especie radicalaria, lo que los relaciona con una mayor capacidad antioxidante de reaccionar por el mecanismo *HAT*. De esta manera, los flavonoides que en fase gas son más propensos a donar un H, en comparación con el Trolox, se ordenan como: quercetina > isoquercetina > kaempferol > homoorientina > quercetina 3-O-robinobiosido.

**Tabla 4.4:**  $BDE$  (en kcal/mol) de los sitios activos de los flavonoides

Flavonoide	Posición	$BDE$	
		Gas	Acuosa
Catequina	4'	102.87	79.71
Epicatequina	4'	75.55	79.19
Gallocatequina	4'	75.88	76.97
Taxifolina	4'	75.75	80.35
Kaempferol	3	74.52	77.79
Nicotiflorina	4'	84.91	88.09
Robinetina	4'	75.63	76.87
Quercetina	4'	73.67	78.95
Isoquercetina	4'	74.41	80.25
Quer. 3-O-neo.	4'	76.69	81.18
Quer. 3-O-rob.	4'	74.81	80.54
Rutina	4'	75.16	81.18
Homoorientina	4'	74.77	80.14
Lut. 7,3'-di-O-g.	4'	81.45	83.10
Vitexina	4'	84.12	86.17
Isovitexina	5	81.04	84.49
Tangeretina	-	-	-
Daidzeina	4'	83.23	85.30
Genisteina	4'	83.12	84.97
Gliciteina	4'	83.06	85.19
Trolox	6	74.88	75.73

En fase acuosa, los  $BDE$  de todos los flavonoides aumentan en un rango de 0.86-6.01 kcal/mol en comparación con fase gas (figura 4.2) y superan el valor obtenido en el Trolox. Esto indica que el agua, siendo un solvente polar prótico, no muestra un gran efecto sobre la capacidad de donar un H a un radical libre, aunque esta

variación es desfavorable a su actividad. Catequina representa una excepción al estar solvatada, logrando una disminución del  $BDE_{min}$  en 23.15 kcal/mol.



**Figura 4.2:** Variación de los  $BDE$  de fase gas a fase acuosa

Según la tabla 4.4, los flavonoides con mayor capacidad de donar un H en fase acuosa se ordenan como: robinetina >gallocatequina >kaempferol >quercetina >epicatequina >catequina. Como se observa, la actividad de kaempferol no varía mucho en ambos medios, al igual que en gallocatequina y robinetina, la diferencia es que la actividad de estos dos últimos en fase gas es superada por algunos glicósidos de flavonoides que, no obstante en fase acuosa, disminuyen su actividad hasta en 5.8 kcal/mol. Quercetina también disminuye su actividad en un rango similar, pero debido a su bajo valor de  $BDE$  en fase gas, se ubica aún dentro de los candidatos con mayor capacidad antioxidante mediante esta vía.

Por otro lado, se ha observado que los flavonoides que carecen del grupo 3'-OH y al mismo tiempo poseen menos de 4 grupos OH fenólicos presentan los mayores valores de  $BDE$  (>80 kcal/mol en fase gas y >83 kcal/mol en fase acuosa), tales son las flavonas (vitexina, isovitexina, luteolina 7,3'-diglucósido) con excepción de homoorientina, las isoflavonas (daidzeina, genisteina, gliciteina) y el flavonol nicotiflorina (derivado glicosídico de kaempferol). Estos flavonoides son los que tienen menor capacidad antioxidante mediante el mecanismo  $HAT$ .

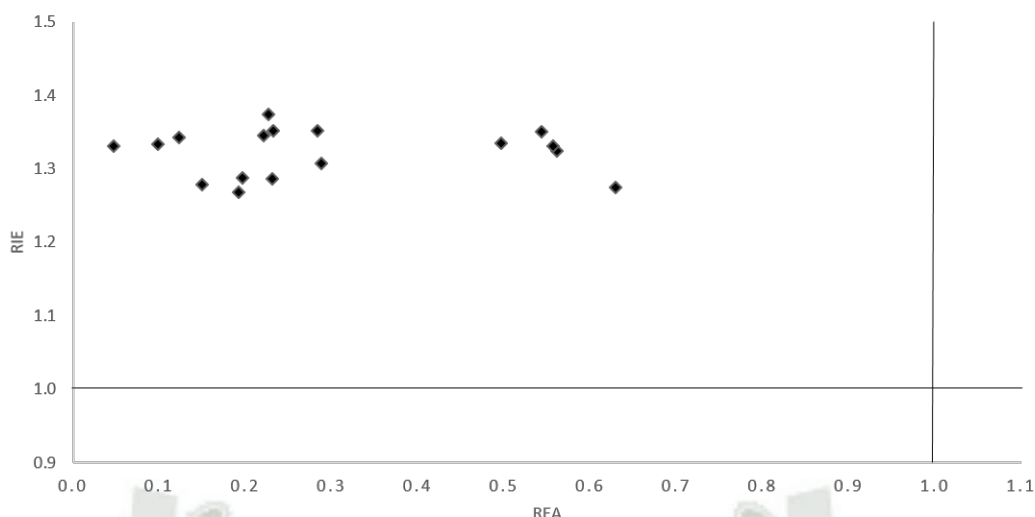
En la tabla 4.5 se muestran los valores de  $IE$  y  $EA$  obtenidos en fase gas y en fase acuosa, los cuales están relacionados con el mecanismo  $SET$ . Los valores de  $IE$  están vinculados a la capacidad de los flavonoides de donar un electrón a una

especie radicalaria, relacionándose con su actividad antioxidante al reaccionar por el mecanismo *SET I* (oxidación de los flavonoides). Por otro lado, los valores de *EA* están vinculados a la capacidad de aceptar un electrón de una especie radicalaria, relacionándose con su capacidad antioxidante al reaccionar por el mecanismo *SET II* (reducción de los flavonoides).

**Tabla 4.5:** *IE* y *EA* (en kcal/mol) de los flavonoides

Flavonoide	<i>IE</i>		<i>EA</i>	
	Gas	Acuosa	Gas	Acuosa
Catequina	232.24	187.85	-11.61	25.26
Epicatequina	229.57	187.49	-15.06	26.91
Gallocatequina	230.82	187.66	-25.52	58.23
Taxifolina	238.48	189.14	14.81	58.47
Kaempferol	234.70	190.68	18.50	59.24
Nicotiflorina	231.60	195.56	32.44	60.93
Robinetina	226.98	185.78	18.80	60.61
Quercetina	223.58	184.83	12.85	58.34
Isoquercetina	220.13	188.89	12.57	59.52
Quer. 3-O-neo.	234.45	190.95	35.47	60.44
Quer. 3-O-rob.	221.26	189.96	41.06	60.24
Rutina	221.96	190.81	9.75	57.95
Homoorientina	229.77	190.16	36.65	57.42
Lut. 7,3'-di-O-g.	223.22	193.79	15.09	58.57
Vitexina	233.44	199.19	14.45	57.06
Isovitexina	230.97	196.77	36.33	56.63
Tangeretina	234.73	187.36	15.15	59.41
Daidzeina	232.93	190.39	8.00	54.54
Genisteina	230.96	189.83	3.11	51.69
Gliciteina	231.46	193.10	6.43	53.76
Trolox	218.57	175.80	-26.50	17.64
F	-	-	65.28	157.79
Na	173.58	99.64	-	-

Para evaluar el potencial de los flavonoides como donadores o aceptores de electrones al reaccionar por la vía *SET*, se realizó una comparación cualitativa mediante la construcción del mapa *FEDAM*, considerando los valores de *F* y *NA* como referencia. Según los valores de *REA* y *RIE* obtenidos en fase gas y en fase acuosa (figura 4.3 y 4.4), los flavonoides analizados y el Trolox actúan en general como pobres donadores y pobres aceptores de electrones, localizados en el cuadrante superior izquierdo del mapa (véase también figura 2.9 y anexo D tabla D.4 y D.5).

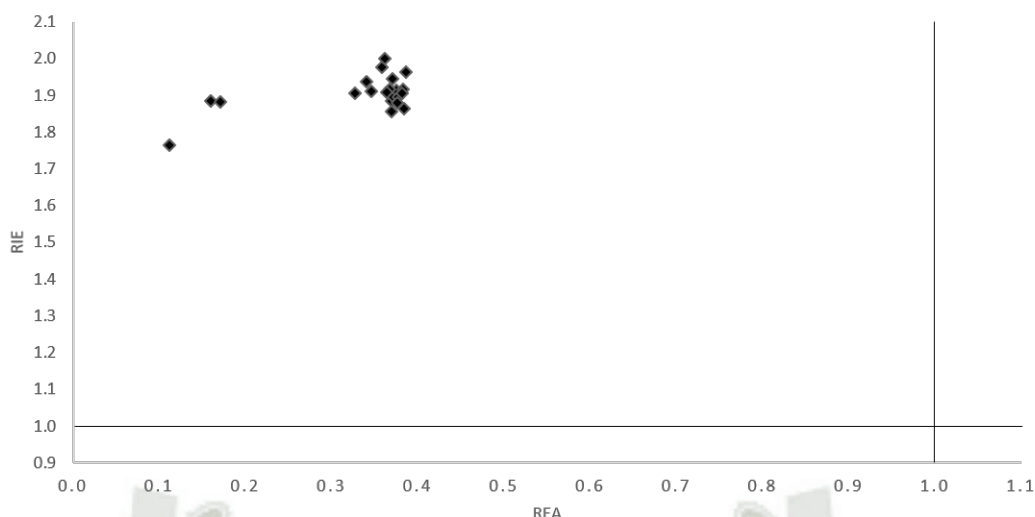


**Figura 4.3:** *FEDAM* de los flavonoides en fase gas. Las líneas que cruzan en la unidad de ambos ejes han sido incluidas para ubicar los cuadrantes que clasifican a los flavonoides como buenos o malos aceptores y donadores de electrones

Se encontraron 4 valores negativos de  $EA$  en fase gas correspondientes a los flavonoides catequina, epicatequina, galocatequina y a Trolox, los cuales fueron omitidos en el gráfico *FEDAM*, ya que poseen valores muy distintos a los encontrados en el resto de flavonoides (tabla 4.5). Aunque no se encontró ninguna falla en los cálculos, esto podría deberse a una predicción incorrecta de la funcional utilizada.

La actividad electro-donadora y electro-aceptora es aún menos importante cuando los flavonoides se encuentran solvatados, donde el comportamiento entre la mayoría de ellos es incluso muy similar (figura 4.4). Catequina y epicatequina, al igual que el Trolox, muestran aún una menor actividad electro-aceptora, ubicándose en el mapa como los 3 puntos que distan del resto de puntos agrupados. Además se observa que el Trolox es también mejor electro-donador que los flavonoides analizados.

Cabe resaltar que los valores de  $IE$  son menores en fase acuosa que en fase gas, así como los valores de  $EA$  son mayores (tabla 4.5), lo cual indicaría que los mecanismos *SET I* y *II* se vuelven más factibles al estar los flavonoides solvatados. Sin embargo, lo que muestra el mapa *FEDAM* es que su potencial como electro-donadores y electro-aceptores es aún inferior al de F y Na. En el trabajo de R. Johns (2014), se reportaron resultados semejantes en compuestos como vitamina C, resveratrol, ácido xanturénico, entre otros.<sup>100</sup> Este mapa es útil para comparar de forma cualitativa y rápida el potencial antioxidante entre compuestos al reaccionar por la vía *SET*.



**Figura 4.4:** *FEDAM* de los flavonoides en fase acuosa. Las líneas que cruzan en la unidad de ambos ejes han sido incluidas para ubicar los cuadrantes que clasifican a los flavonoides como buenos o malos aceptores y donadores de electrones

En la tabla 4.6 se muestran los valores de *IE* y *PDE* obtenidos en fase gas y fase acuosa, los cuales están relacionados con el mecanismo *SEPT*. Para que una reacción antioxidante pueda llevarse a cabo mediante esta vía, es necesario que la molécula antioxidante inicialmente posea un bajo valor de *IE* para el primer paso de reacción (reacción tipo *SET*), y que el producto radical catiónico resultante, o intermedio de reacción, posea un bajo valor de *PDE* para el segundo paso de desprotonación.

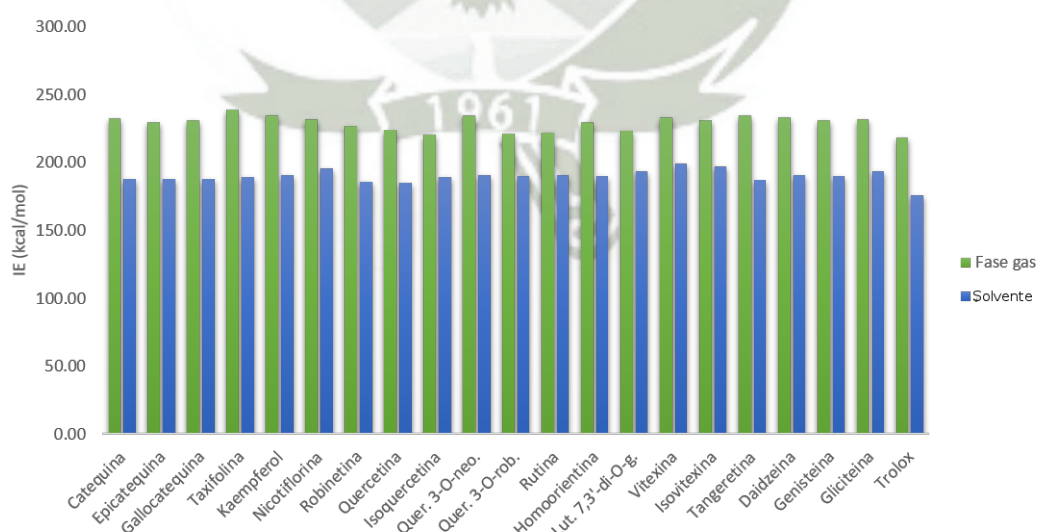
Todos los flavonoides analizados presentan valores de *IE* superiores al de Trolox en ambos medios. En fase gas, la capacidad de donar un electrón se ordena como: isoquercetina > quercetina 3-O-robinobiósido > rutina > luteolina 7,3'-diglucósido > quercetina. Los valores de *PDE* son inferiores al de trolox en ambos medios, exceptuando al de luteolina 7,3'-diglucósido en fase gas. Se observa que el segundo paso de reacción es energéticamente más factible que el primero, ya que todos los valores de *PDE* son mucho menores a los de *IE*.

En fase acuosa, los valores de *IE* disminuyen en un rango de 29.4-49.3 kcal/mol (figura 4.5), de modo que la vía *SET* es más fácilmente influenciada por la solvatación con agua que la vía *HAT*. La polaridad del medio favorece la formación de especies ionizadas y facilita la transferencia de un electrón a una especie radicalaria. Los radicales catiónicos son más estables en solventes polares como el agua. Los flavonoides con mayor capacidad de donar un electrón en este medio se ordenan como: quercetina > robinetina > tangeretina > epicatequina > galocatequina > cate-

**Tabla 4.6:** *IE* y *PDE* (en kcal/mol) de los sitios activos de los flavonoides

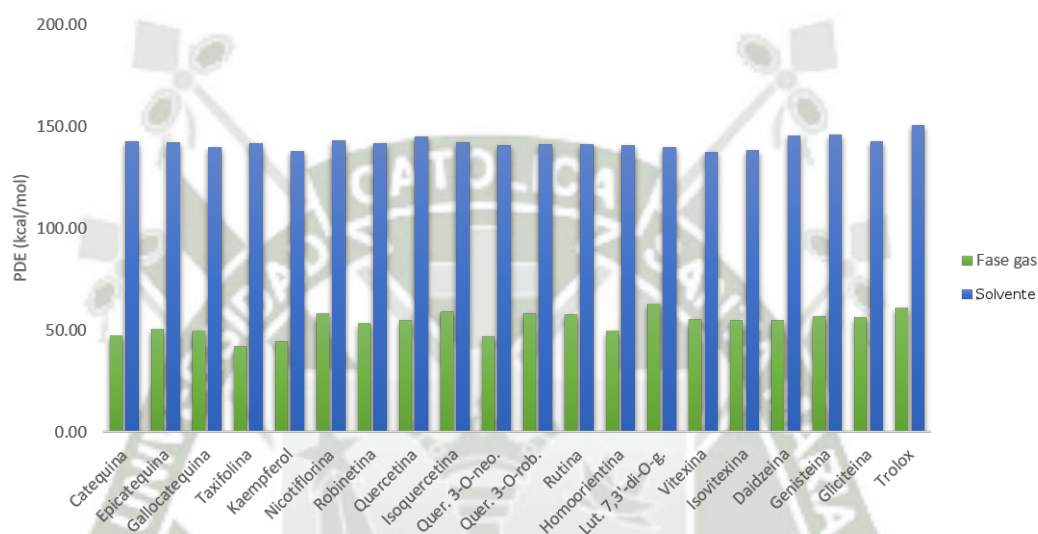
Flavonoide	Posición	<i>IE</i>		<i>PDE</i>	
		Gas	Acuosa	Gas	Acuosa
Catequina	4'	232.24	187.85	47.51	142.57
Epicatequina	4'	229.57	187.49	50.67	142.40
Gallocatequina	4'	230.82	187.66	49.75	140.03
Taxifolina	4'	238.48	189.14	41.96	141.91
Kaempferol	3	234.70	190.68	44.51	137.82
Nicotiflorina	4'	231.60	195.56	58.00	143.24
Robinetina	4'	226.98	185.78	53.35	141.79
Quercetina	4'	223.58	184.83	54.78	144.83
Isoquercetina	4'	220.13	188.89	58.97	142.07
Quer. 3-O-neo.	4'	234.45	190.95	46.93	140.93
Quer. 3-O-rob.	4'	221.26	189.96	58.24	141.29
Rutina	4'	221.96	190.81	57.89	141.07
Homoorientina	4'	229.77	190.16	49.69	140.69
Lut. 7,3'-di-O-g.	4'	223.22	193.79	62.91	140.02
Vitexina	4'	233.44	199.19	55.37	137.68
Isovitexina	5	230.97	196.77	54.77	138.43
Tangeretina	-	234.73	187.36	-	-
Daidzeina	4'	232.93	190.39	54.99	145.62
Genisteina	4'	230.96	189.83	56.85	145.85
Gliciteina	4'	231.46	193.10	56.29	142.80
Trolox	6	218.57	175.80	60.99	150.64

quina. Estos resultados indican que la actividad de quercetina en fase acuosa se ve favorecida por sobre el resto de flavonoides; en cambio, el aumento de la actividad de los glicósidos de quercetina no es muy grande en comparación con la de robinetina, tangeretina y los flavanoles, reemplazándolos como mejores candidatos antioxidantes por esta vía.



**Figura 4.5:** Variación de los *IE* de fase gas a fase acuosa

Los valores de *PDE* en fase acuosa aumentan abruptamente en un intervalo de 77.1-100 kcal/mol (figura 4.6). Una vez que las especies radicalarias catiónicas se han formado en agua, el requerimiento energético para desprotonarse y neutralizarse es más alto que cuando no se encuentran solvatadas. Esto puede explicarse del mismo modo que en los casos anteriores. La polaridad del agua hace que los radicales catiónicos encuentren una estabilidad de la cual sería energéticamente más costoso salir. De esta manera, la solvatación con agua hace que el mecanismo *SEPT* se vuelva menos accesible.



**Figura 4.6:** Variación de los *PDE* de fase gas a fase acuosa

Se observa que a medida que los flavonoides son más propensos a donar un electrón, la energía requerida para desprotonarse desde su forma radicalaria tiende a aumentar. Según la tabla 4.6, gallocatequina y robinetina son flavonoides que tendrían la más alta probabilidad de reaccionar mediante el mecanismo *SEPT* en fase acuosa, ya que para ambos pasos de reacción requieren de menores energías que el resto de flavonoides.

En la tabla 4.7 se muestran los valores de *PA* y *ETE* obtenidos en fase gas y fase acuosa, los cuales están relacionados con el mecanismo *SPLET*. Para que una reacción antioxidante pueda llevarse a cabo mediante esta vía, es necesario que la molécula antioxidante posea inicialmente un bajo valor de *PA* para el primer paso de reacción, y que el anión resultante (o intermedio de reacción), posea un bajo valor de *ETE* para el segundo paso, en el cual ejerce su función antioxidante.

A diferencia del mecanismo *SEPT*, donde el segundo paso de reacción no es el que

**Tabla 4.7:** *PA* y *ETE* (en kcal/mol) de los sitios activos de los flavonoides

Flavonoide	Posición	<i>PA</i>		<i>ETE</i>	
		Gas	Acuosa	Gas	Acuosa
Catequina	4'	160.30	169.87	119.45	160.54
Epicatequina	4'	164.07	169.93	116.17	159.96
Gallocatequina	4'	167.12	170.48	113.45	157.20
Taxifolina	4'	163.68	169.25	116.75	161.80
Kaempferol	3	161.99	168.80	117.23	159.70
Nicotiflorina	4'	150.78	170.31	138.82	168.49
Robinetina	4'	163.45	167.79	116.88	159.78
Quercetina	4'	160.27	167.61	118.08	162.05
Isoquercetina	4'	160.82	165.27	118.28	165.69
Quer. 3-O-neo.	4'	150.72	167.13	130.67	164.75
Quer. 3-O-rob.	4'	156.58	166.86	122.92	164.39
Rutina	4'	160.78	167.37	119.07	164.51
Homoorientina	4'	159.76	166.87	119.70	163.97
Lut. 7,3'-di-O-g.	4'	161.25	170.55	124.89	163.26
Vitexina	4'	155.85	169.07	132.96	167.80
Isovitexina	5	164.20	164.86	121.54	170.34
Tangeretina	-	-	-	-	-
Daidzeina	4'	175.61	173.46	112.30	162.55
Genisteina	4'	177.00	173.43	110.81	162.25
Gliciteina	4'	176.21	173.47	111.54	162.42
Trolox	6	180.35	177.26	99.22	149.18

ejerce la actividad antiradicalaria y depende en gran medida del medio de reacción, en el mecanismo *SPLET*, el segundo paso de reacción sí ejerce esta actividad y depende de la cantidad de formas aniónicas presentes. De esta forma, la naturaleza y pH del solvente ejercen un efecto muy importante al momento de definir si los flavonoides reaccionarán con los radicales libres desde su forma aniónica o neutra, considerando que sus valores de pKa están comprendidos entre 6.5 y 8.5 en medio acuoso.<sup>37</sup>

Se encontró que todos los flavonoides presentan valores de *PA* inferiores al de Trolox en ambos medios de reacción, aunque sucede de manera inversa con los valores de *ETE*, donde todos resultan ser superiores. Los flavonoides con mayor capacidad de desprotonación en fase gas son quercetina 3-O-neohesperidósido y nicotiflorina. Por otro lado, los que tienen mayor capacidad de donar un electrón desde su forma aniónica en fase gas son las isoflavonas y el flavanol gallocatequina.

La tendencia a perder un protón en fase acuosa no es la misma en todos los casos. En la mayoría de flavonoides aumentan los valores de *PA* en un rango de 0.66-19.5 kcal/mol, aunque en las isoflavonas (daidzeina, genisteina, gliciteina) y en el Trolox disminuyen hasta 3.6 kcal/mol, tal como se muestra en la (figura 4.7). El segundo

caso concuerda con lo mencionado anteriormente sobre la solvatación con agua y la formación de especies cargadas, pero es probable que no sea igual en todas las clases de flavonoides debido a efectos de sus pKa.

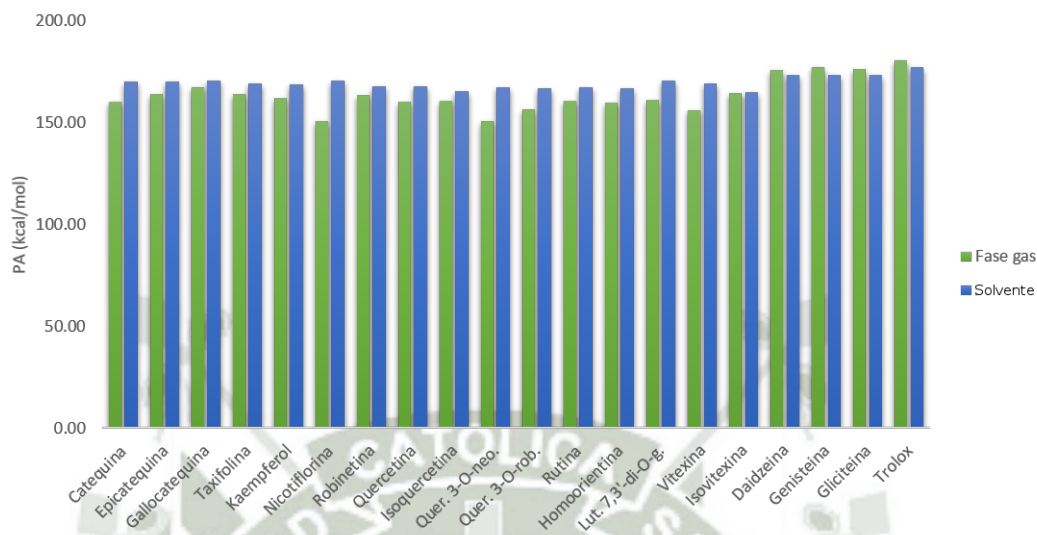


Figura 4.7: Variación de los PA de fase gas a fase acuosa

Por otro lado, la solvatación con agua dificulta la tendencia de las formas aniónicas a donar un electrón, aumentando los valores de ETE en un rango de 29.7-51.4 kcal/mol (figura 4.8).

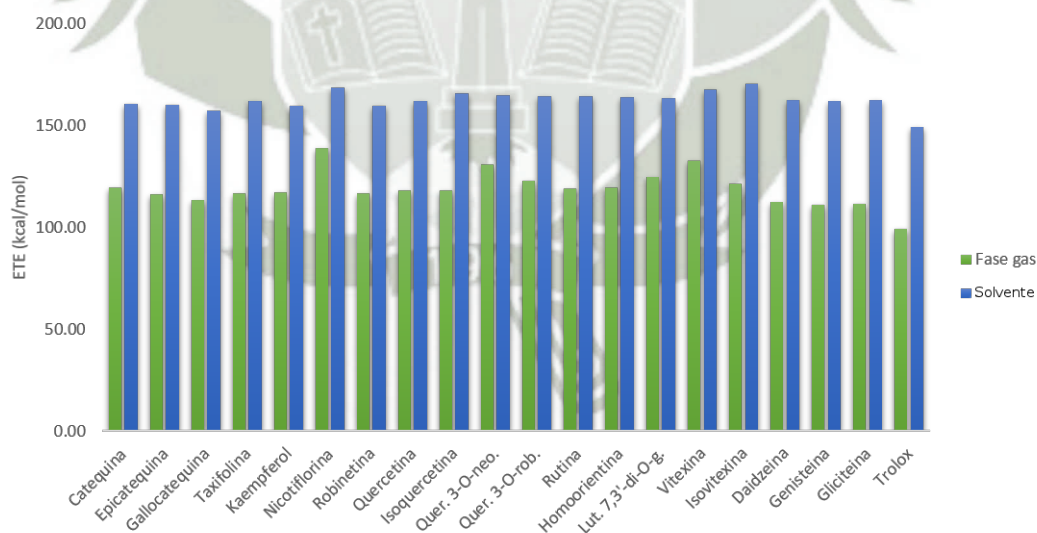


Figura 4.8: Variación de los ETE de fase gas a fase acuosa

Los flavonoides con mayor capacidad de desprotonación en fase acuosa se ordenan como: isovitexina > isoquercetina > quercetina 3-O-robinobiosido > homoorientina > quercetina 3-O-neohesperidósido > rutina > quercetina > robinetina. Se observa

que los glicósidos de flavonoides son los que tienden a perder un protón con mayor facilidad. Por otro lado, los flavonoides aniónicos con mayor capacidad de donar un electrón en este medio son galocatequina >kaempferol >robinetina >epicatequina >catequina.

Al igual que en la vía *SEPT*, se observa que a medida que los flavonoides son más propensos a desprotonarse, la energía requerida para donar un electrón desde su forma aniónica tiende a aumentar. Según la tabla 4.7, robinetina, kaempferol y quercetina son los flavonoides que tienen la más alta probabilidad de reaccionar mediante el mecanismo *SPLET* en fase acuosa, ya que mantienen los menores valores de *PA* y *ETE* frente al resto de flavonoides.

Se comparó la factibilidad energética de las diferentes vías de reacción según los valores de las propiedades ya analizadas. La ruptura homolítica o heterolítica de los sitios activos depende en gran medida del medio donde se desenvuelve la reacción. Los valores de *BDE* en ambas fases son significativamente menores a los de *IE* y *PA* (y *ETE*), lo cual indica que es más factible que el mecanismo *HAT* se lleve a cabo por sobre el mecanismo *SET*, *SEPT* y *SPLET*, desde el punto de vista termodinámico.

A pesar de que la solvatación con agua hace que la vía *SET* sea más accesible, las energías requeridas para la desprotonación de los flavonoides (*PA*) son más bajas que las requeridas para la donación de un electrón (*IE*) cuando estos se encuentran en su forma neutra. Además, la tendencia de los flavonoides de donar un electrón es energéticamente más factible en su forma aniónica que en su forma neutra, ya que los valores de *ETE* son también menores a los de *IE*. Por lo tanto, la vía *SPLET* puede ser priorizada por sobre la vía *SET* y *SEPT* tanto en fase como en fase acuosa. Esto coincide con la evaluación cualitativa del mapa *FEDAM*, la cual mostró que estos flavonoides tienen un potencial bajo como sólo donadores o aceptores de electrones desde su forma neutra.

Se debe considerar que los flavonoides tienen la posibilidad de reaccionar por cualquiera de los mecanismos antioxidantes, pero la velocidad de reacción no sería la misma por todas las vías debido a su factibilidad energética. Por ello, su capacidad antioxidante depende principalmente del mecanismo de reacción priorizado.

Existen algunos reportes teóricos donde se ha encontrado que la transferencia de un átomo de H es posible también desde la forma aniónica de los flavonoides, y que

este paso requiere de menores energías que *ETE* al encontrarse en solución con agua o etanol. Este mecanismo ha sido presentado en la revisión de A. Galano (2015) como la vía *SPLEHAT*.<sup>5</sup> Sin embargo, existe aún muy poca información donde la validen.

Se ha observado que entre los flavonoides analizados, los que tienen una alta capacidad de transferir un átomo de H tienen también una alta capacidad de donar un electrón. Este es el caso de los flavanoles catequina, epicatequina y galocatequina, y los flavonoles quercetina y robinetina.

En comparación con el estándar antioxidante Trolox, estos flavonoides muestran en general requerimientos energéticos superiores para ejercer una actividad antioxidante mediante las diferentes vías de reacción, tanto en fase gas como en fase acuosa. Únicamente los pasos de desprotonación (*PA* y *PDE*) de las vías *SPLET* y *SEPT* en fase gas logran ser energéticamente más fáciles de llevarse a cabo que en el Trolox; aunque, ambos pasos no son tan importantes si las propiedades *IE* y *ETE*, que son las asociadas a la actividad antiradicalaria, tienen requerimientos energéticos muy elevados.

#### **4.5. Correlación de las propiedades calculadas con porcentajes de actividad antioxidante reportados experimentalmente**

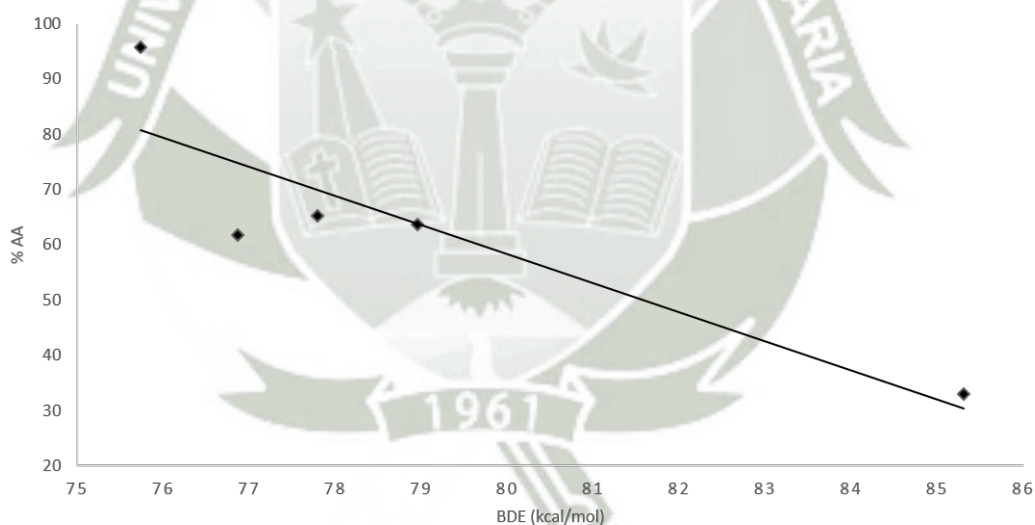
A fin de complementar los resultados obtenidos, se extrajeron datos experimentales de los porcentajes de actividad antioxidante reportados en algunos flavonoides (%AA) y se compararon con las propiedades calculadas, mediante un análisis de correlación lineal simple de Pearson. Los valores experimentales fueron sacados de un estudio realizado por S. Burda y W. Oleszek en el 2001 (tabla 4.8), donde se mide la inhibición de la oxidación de ácido linoleico/ $\beta$ -caroteno en una emulsión acuosa mediante un ensayo espectrofotométrico.<sup>98</sup>

**Tabla 4.8:** %AA experimentales reportados en algunos de los flavonoides analizados y las correspondientes *BDE*, *ETE*, *IE* calculadas computacionalmente

Flavonoide	<i>BDE</i>	<i>ETE</i>	<i>IE</i>	%AA
Trolox	75.73	149.18	175.80	95.8
Kaempferol	77.79	159.70	190.68	65.3
Robinetina	76.87	159.78	185.78	61.7
Quercetina	78.95	162.05	184.83	63.6
Daidzeina	85.30	162.55	190.39	32.9

Se seleccionaron los datos de este estudio experimental por sobre otros ensayos debido a la mayor cantidad de flavonoides analizados y la similitud del solvente utilizado, así como por ser un ensayo que no se basa en un mecanismo de reacción particular sino en la inhibición de la oxidación en general.

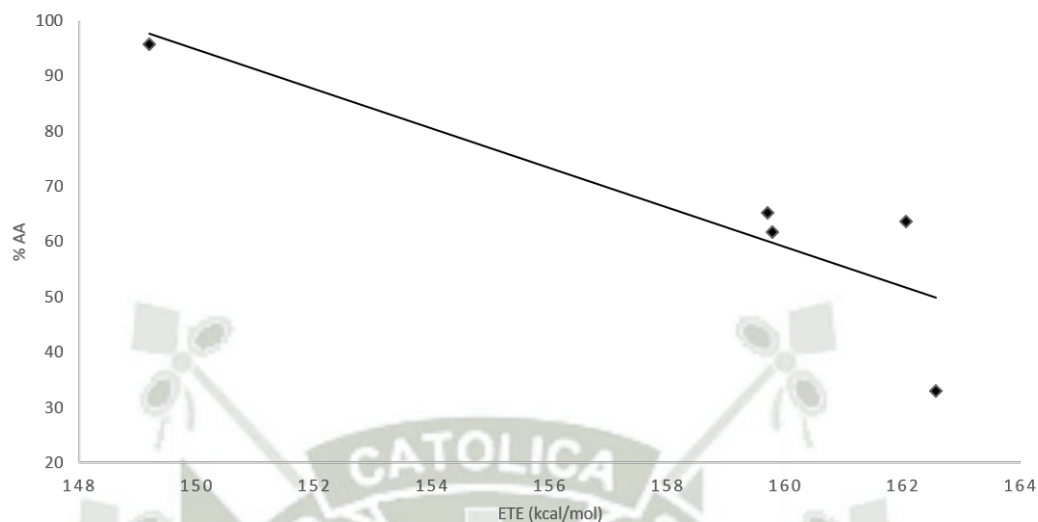
Cuando se relacionan las propiedades de reactividad teóricas frente a los %AA, la mejor relación se obtiene con los *BDE* calculados (figura 4.9), mostrando la correlación inversa más fuerte ( $r=-0.8865$ ), donde existe una relación alta entre las menores energías requeridas para la transferencia de un átomo de H y la más alta actividad antioxidante.



**Figura 4.9:** Correlación de los *BDE* calculados con algunos %AA experimentales reportados en una emulsión acuosa.

En el caso de los valores de *ETE* (figura 4.10), se obtiene también una correlación inversa fuerte importante ( $r=-0.8751$ ), pero inferior a la anterior presentada. Como se mencionó, la factibilidad del mecanismo *SPLET* depende de la cantidad de formas aniónicas presentes, de modo que al encontrarse una mayor cantidad de formas neutras, el mecanismo *HAT* estaría priorizado. Sin embargo, no hay una gran

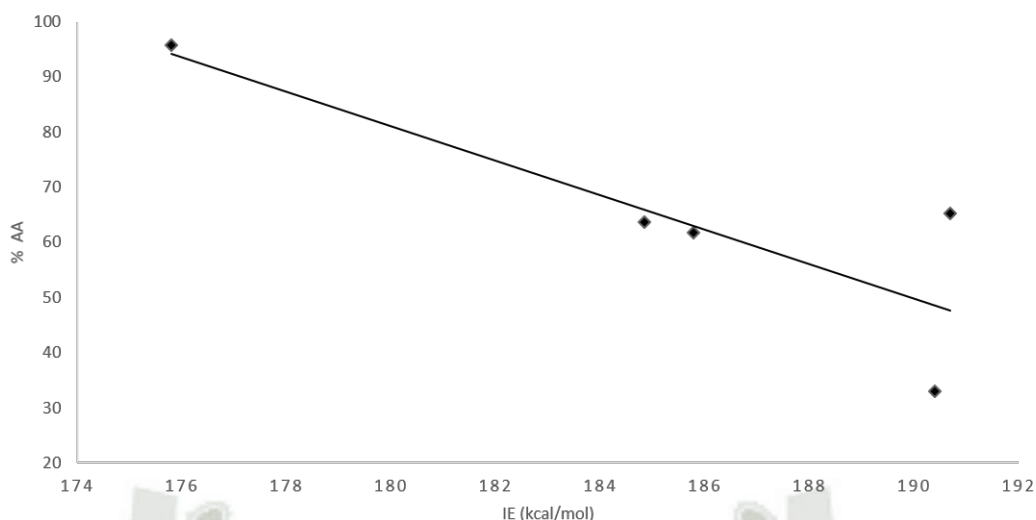
variación entre ambas relaciones ya que, de acuerdo a los resultados de la tabla 4.4 y 4.7, la capacidad de cada flavonoide es similar al actuar por cualquiera de estas dos vías de reacción.



**Figura 4.10:** Correlación de los *ETE* calculados con algunos %AA experimentales reportados en una emulsión acuosa.

Cuando se analizan los valores de *IE* (figura 4.11), se encuentra una correlación inversa importante ( $r=-0.8452$ ), pero inferior a la presentada con *BDE* y *ETE*, donde la presencia del mecanismo *SET* no prevalece por encima de las otras vías, pero mantiene también una alta relación con la actividad antioxidante de estos flavonoides.

En efecto, el orden en el que se puede clasificar a los flavonoides analizados según su actividad es similar en las diferentes vías de reacción en este caso; sin embargo, las pequeñas variaciones que se encuentran dependiendo de cada vía explican los resultados de correlación obtenidos. Además, la más alta relación encontrada con los valores de *BDE* concuerda con la mayor factibilidad energética del mecanismo *HAT* frente al resto de mecanismos en medio acuoso y bajo las condiciones determinadas. Sin embargo, no se excluye la posibilidad que las diferentes reacciones coexistan en un experimento dado.



**Figura 4.11:** Correlación de los  $IE$  calculados con algunos %AA experimentales reportados en una emulsión acuosa.

## 4.6. Evaluación de índices de reactividad global

Los índices de reactividad calculados a partir de los valores de  $IE$  y  $EA$  (tabla 4.9 y 4.10) permitieron predecir la reactividad global de estas moléculas, principalmente en términos de blandura química, electronegatividad y electrofilicidad.

**Tabla 4.9:** Índices de reactividad global (en eV) en fase gas

Flavonoide	$\mu$	$\chi$	$\eta$	S	$\omega$
Catequina	-4.7837	4.7837	5.2872	0.0946	2.1641
Epicatequina	-4.6509	4.6509	5.3040	0.0943	2.0392
Gallocatequina	-4.4514	4.4514	5.5578	0.0900	1.7826
Taxifolina	-5.4918	5.4918	4.8497	0.1031	3.1094
Kaempferol	-5.4900	5.4900	4.6877	0.1067	3.2148
Nicotiflorina	-5.7249	5.7249	4.3184	0.1158	3.7948
Robinetina	-5.3290	5.3290	4.5136	0.1108	3.1458
Quercetina	-5.1263	5.1263	4.5690	0.1094	2.8758
Isoquercetina	-5.0453	5.0453	4.5003	0.1111	2.8282
Quer. 3-O-neo.	-5.8525	5.8525	4.3144	0.1159	3.9695
Quer. 3-O-rob.	-5.6876	5.6876	3.9072	0.1280	4.1397
Rutina	-5.0240	5.0240	4.6012	0.1087	2.7428
Homoorientina	-5.7765	5.7765	4.1871	0.1194	3.9847
Lut. 7,3'-di-O-g.	-5.1671	5.1671	4.5129	0.1108	2.9580
Vitexina	-5.3748	5.3748	4.7482	0.1053	3.0420
Isovitexina	-5.7956	5.7956	4.2201	0.1185	3.9796
Tangeretina	-5.4179	5.4179	4.7609	0.1050	3.0827
Daidzeina	-5.2239	5.2239	4.8769	0.1025	2.7978
Genisteina	-5.0751	5.0751	4.9401	0.1012	2.6069
Gliciteina	-5.1578	5.1578	4.8791	0.1025	2.7263
Trolox	-4.1646	4.1646	5.3136	0.0941	1.6321

Estos resultados muestran que el flavonoide más propenso a reaccionar y estabilizarse cuando se agrega una carga al sistema (valores de S) es quercetina 3-O-robinobiósido en fase gas, y robinetina y quercetina en fase acuosa. Estos flavonoides son los que también presentan una alta afinidad electrónica y electrofilicidad en cada caso. Así mismo, los valores de  $\eta$  son inversos a los valores de S, por lo que según estos índices, los flavanoles presentan la mayor dureza química (estabilidad), siendo comparable a la del Trolox en fase gas y fase acuosa. Los flavonoides vitexina, isovitexina y gliciteina se vuelven también menos propensos a reaccionar en solvatación con agua.

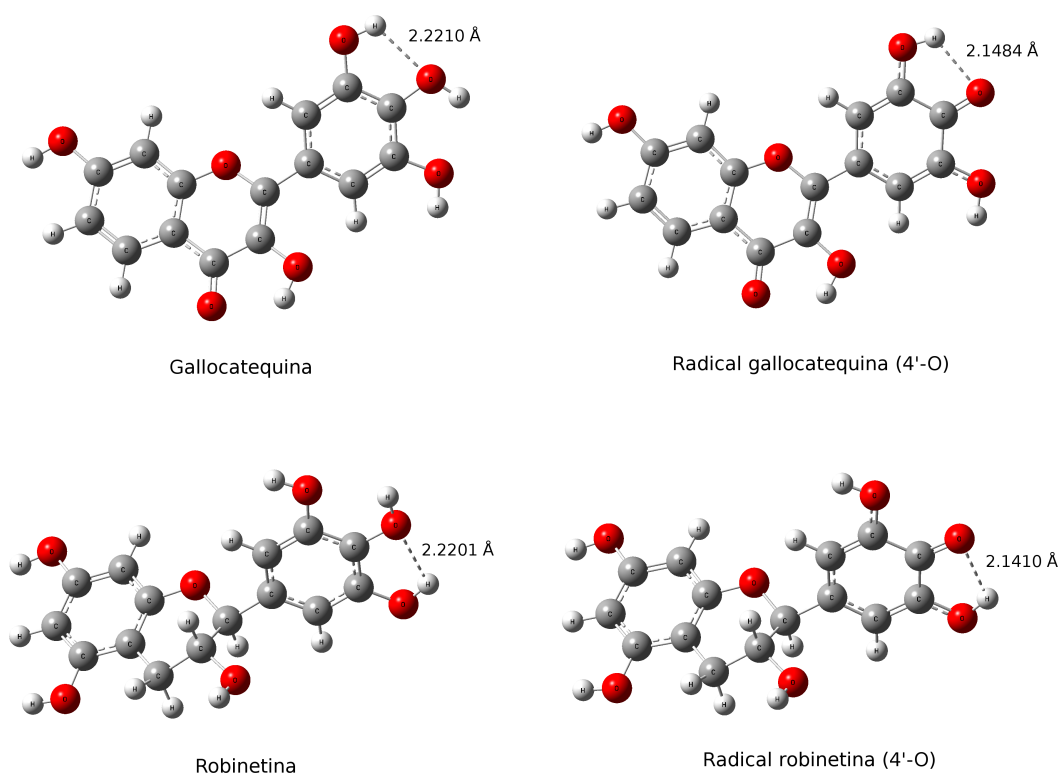
**Tabla 4.10:** Índices de reactividad global (en eV) en fase acuosa

Flavonoide	$\mu$	$\chi$	$\eta$	S	$\omega$
Catequina	-4.6206	4.6206	3.5253	0.1418	3.0281
Epicatequina	-4.6485	4.6485	3.4818	0.1436	3.1031
Gallocatequina	-5.3314	5.3314	2.8061	0.1782	5.0645
Taxifolina	-5.3687	5.3687	2.8333	0.1765	5.0866
Kaempferol	-5.4189	5.4189	2.8499	0.1754	5.1519
Nicotiflorina	-5.5614	5.5614	2.9191	0.1713	5.2977
Robinetina	-5.3421	5.3421	2.7140	0.1842	5.2576
Quercetina	-5.2725	5.2725	2.7425	0.1823	5.0682
Isoquercetina	-5.3859	5.3859	2.8051	0.1782	5.1707
Quer. 3-O-neo.	-5.4506	5.4506	2.8298	0.1767	5.2492
Quer. 3-O-rob.	-5.4248	5.4248	2.8124	0.1778	5.2319
Rutina	-5.3938	5.3938	2.8806	0.1736	5.0497
Homoorientina	-5.3680	5.3680	2.8781	0.1737	5.0061
Lut. 7,3'-di-O-g.	-5.4716	5.4716	2.9320	0.1705	5.1056
Vitexina	-5.5561	5.5561	3.0817	0.1622	5.0087
Isovitexina	-5.4940	5.4940	3.0385	0.1646	4.9670
Tangeretina	-5.3505	5.3505	2.7742	0.1802	5.1596
Daidzeina	-5.3105	5.3105	2.9455	0.1698	4.7872
Genisteina	-5.2368	5.2368	2.9952	0.1669	4.5781
Gliciteina	-5.3523	5.3523	3.0212	0.1655	4.7410
Trolox	-4.1943	4.1943	3.4293	0.1458	2.5650

La tendencia a atraer electrones (valores de  $\chi$ ) es superior en la mayoría de glicósidos en comparación con los aglicones, ordenándose en fase gas de la siguiente forma: quercetina 3-O-neohesperidósido >isovitexina >homoorientina >nicotiflorina >quercetina 3-O-robinobiósido. En fase acuosa, nicotiflorina es también el flavonoide más electronegativo junto con vitexina e isovitexina.

## 4.7. Evaluación del enlace de hidrógeno intramolecular en el sitio activo

La estabilidad de los flavonoides radicalarios producidos en una reacción antioxidante es también un factor importante en la actividad antioxidante y en la selección de compuestos más eficientes. Una manera de evaluar la estabilidad de los flavonoides radicalarios producidos en la vía *HAT* fue mediante la determinación de la longitud del enlace de hidrógeno formado entre el O radicalizado y grupos OH vecinos (figura 4.12). Los enlaces de hidrógeno intramoleculares ayudan a estabilizar a una molécula, de manera que las distancias más cortas entre O e H confieren una mayor estabilidad. Según la literatura, este tipo de enlaces tienen una longitud entre 1.4 a 3.5 Å.<sup>101</sup>



**Figura 4.12:** Longitudes de enlace de H intramolecular en el sitio activo de algunos flavonoides representativos en fase acuosa

Se ha observado que los sitios activos distintos al 4'-OH no presentan OH vecinos, como en el caso de kaempferol (3-OH) e isovitexina (5-OH). Además, los sistemas que tienen como sitio activo al 4'-OH, pero no presentan OH vecinos, como en el

caso de las isoflavonas, el derivado glicosídico de kaempferol, y las flavonas luteolina 7,3'-diglucósido y vitexina, no tienen la posibilidad de formar enlaces de hidrógeno intramoleculares. Todos estos flavonoides, con excepción de kaempferol, son justamente los que presentan menos de 4 grupos OH fenólicos y tienen menor capacidad de transferir un átomo de H ( $BDE > 80$  kcal/mol en fase gas y  $> 83$  kcal/mol en fase acuosa). Al no lograr una mayor estabilización con este tipo de enlaces, su actividad se ve afectada (tabla 4.4).

Los grupos OH distintos al del sitio activo también tienen dificultad de formar un enlace de hidrógeno intramolecular debido a la orientación poco favorable de los hidrógenos vecinos o a la ausencia de estos, por lo cual sus valores de  $BDE$  también son mayores y tienen menor posibilidad de estabilizarse. Por otro lado, las distancias entre los O radicalizados y grupos OH de los glúcidos son superiores a 3.5 Å a en ambos medios.

Según el anexo A figuras A.7 a A.44, de los sistemas analizados, sólo los que tienen como sitio activo al grupo 4'-OH y presentan un OH vecino en las posición 3' (estructura de un catecol) o también en la posición 5' (estructura de un pirogalol) del anillo B son capaces de formar un enlace de hidrógeno. De acuerdo a esto, sólo los flavanoles (catequina, epicatequina, galocatequina), homoorientina, taxifolina, flavonoles como robinetina, quercetina y sus derivados glicosídicos son capaces de formar enlaces de hidrógeno intramoleculares.

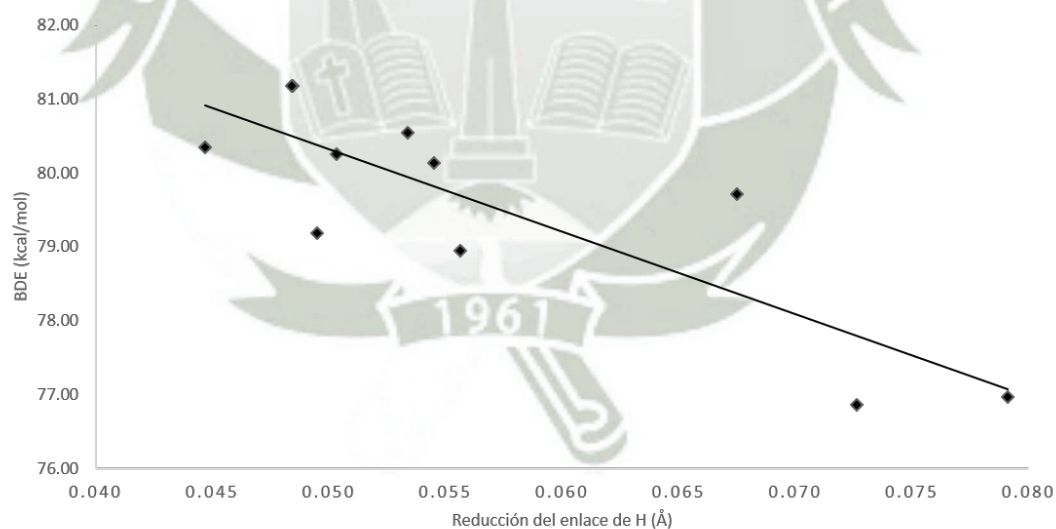
En la tabla 4.11 se comparan las distancias obtenidas en las estructuras iniciales y las estructuras radicalarias neutras de los flavonoides que forman dicho enlace de hidrógeno intramolecular. Las distancias iniciales se encuentran en un rango de 2.13-2.18 Å en fase gas; sin embargo, en las estructuras radicalarias, estos enlaces se vuelven más fuertes, ya que los átomos logran acercarse entre 0.10-0.11 Å más.

Cuando los flavonoides se encuentran en fase acuosa, las distancias en las estructuras iniciales son superiores, oscilando entre 2.18-2.22 Å. Además, el acercamiento entre átomos que se obtiene tras su radicalización es inferior al de fase gas, entre 0.04-0.07 Å más que al inicio. Esto indica que la estabilización mediante enlaces de H intramoleculares es menos importante en fase acuosa que en fase gas. En la figura 4.13 se muestra también la relación encontrada entre la reducción de las longitudes de estos enlaces (acercamiento entre átomos) con los correspondientes valores

**Tabla 4.11:** Longitud del enlace de hidrógeno intramolecular en el sitio activo de los flavonoides que presentan un grupo OH vecino

Flavonoide	Posición radical	Longitud OH--OH		Longitud OH--O•		Reducción enlace		<i>BDE</i> fase acuosa
		Gas	Acuosa	Gas	Acuosa	Gas	Acuosa	
Catequina	4'	2.1317	2.1865	2.0289	2.1190	0.1027	0.0675	79.71
Epicatequina	4'	2.1381	2.1829	2.0313	2.1334	0.1068	0.0495	79.19
Gallocatequina	4'	2.1722	2.2201	2.0302	2.1410	0.1421	0.0791	76.97
Taxifolina	4'	2.1340	2.1811	2.0304	2.1364	0.1036	0.0447	80.35
Robinetina	4'	2.1799	2.2210	2.0393	2.1484	0.1406	0.0726	76.87
Quercetina	4'	2.1406	2.1832	2.0317	2.1276	0.1089	0.0556	78.95
Isoquercetina	4'	2.1407	2.1891	2.0280	2.1388	0.1127	0.0503	80.25
Quer. 3-O-neo.	4'	2.1444	2.1808	2.0333	2.1324	0.1111	0.0484	81.18
Quer. 3-O-rob.	4'	2.1398	2.1930	2.0309	2.1396	0.1088	0.0534	80.54
Rutina	4'	2.1427	2.1814	2.0305	2.1330	0.1122	0.0484	81.18
Homoorientina	4'	2.1384	2.1906	2.0352	2.1361	0.1032	0.0545	80.14

de *BDE* de los flavonoides en fase acuosa. Se ha calculado una correlación inversa fuerte ( $r=-0.8442$ ), donde existe una relación alta entre el mayor acercamiento de los átomos de O e H con los menores valores de *BDE*. Por lo tanto, los flavonoides que logran estabilizarse mediante una mayor reducción de sus longitudes de enlace (interacción más fuerte) son también los de mayor actividad al reaccionar por la vía *HAT*.



**Figura 4.13:** Correlación entre la reducción de la longitud del enlace de hidrógeno intramolecular en el sitio activo con los *BDE* calculados

Cabe resaltar que, aunque el Trolox no presenta OH vecinos, su *BDE* en fase acuosa es aún inferior a los de los flavonoides analizados, por lo que esta relación debe considerarse sólo como un factor de estabilización entre varios más. Otros es-

tudios deducen que la formación de enlaces de hidrógeno con las moléculas del agua (intermoleculares) es priorizada por sobre la de los intramoleculares debido a la polaridad del medio; de forma que, estos enlaces pueden contribuir a la estabilización de las moléculas radicalarias de igual manera.

Además, algunos estudios mencionan que es posible que en un solvente coexista más de un conformero estable de algunos flavonoides, como en el caso de epicatequina, quercetina y algunos de sus glicósidos. Estos conformeros se diferencian en la orientación de los H presentes en las posiciones 3' y 4', donde en algunos casos no existe la formación de un enlace de hidrógeno intramolecular entre estos grupos OH. Se ha reportado que la desprotonación de aquellos conformeros ocurre en el 7-OH, ya que la estabilización en su forma aniónica no está favorecida por un enlace de H en el catecol, como en los casos observados en este estudio. Sin embargo, se ha visto que el *ETE* hallado en la posición 7 de aquellos conformeros aniónicos es mucho mayor. Es por esto que su capacidad antioxidante depende también en este caso de la concentración de los diferentes conformeros.<sup>37</sup>

#### 4.8. Evaluación de la distribución de la densidad de espín

Otra forma de evaluar la estabilidad de los flavonoides radicalarios fue mediante la distribución de la densidad de espín (anexo B figuras B.1 a B.6). Ésta permite medir la capacidad de una molécula radicalaria de deslocalizar el electrón desapareado a lo largo de su estructura, encontrándose un valor máximo de densidad de espín en el átomo o región que tiene mayor probabilidad de contener al electrón desapareado y que permanece más reactivo. Los flavonoides radicalarios que poseen inferior densidad de espín en este átomo, en comparación con el resto de sistemas, son los más estables.

En la tabla 4.12 y 4.13 se muestran los átomos más reactivos, en los cuales se encuentra la densidad de espín máxima de cada flavonoide radicalario. En tendencia, existe una mayor deslocalización electrónica en fase acuosa, ya que la mayoría de valores de densidad de espín en estos átomos disminuyen independientemente de la vía de reacción seguida; por lo tanto, la estabilidad también aumenta. Algunos de

estos resultados coinciden con la disminución de los valores de *IE* en el caso de la vía *SET* (tabla 4.6), pero no con los de *BDE* en la vía *HAT* (tabla 4.4), donde por lo contrario existe un ligero aumento al encontrarse en un ambiente polar. Además, todos los valores son inferiores al del Trolox en este solvente.

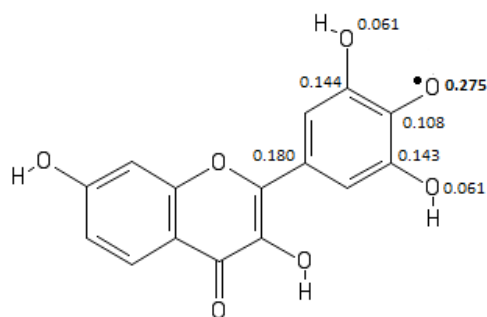
**Tabla 4.12:** Densidad de espín del átomo más reactivo en los flavonoides radicalarios neutros

Flavonoide	Átomo más reactivo	Densidad de espín	
		Gas	Acuosa
Catequina	4'-O	0.3072	0.2845
Epicatequina	4'-O	0.3105	0.2840
Gallocatequina	4'-O	0.3230	0.3003
Taxifolina	4'-O	0.3072	0.2862
Kaempferol	3-O	0.2941	0.2928
Nicotiflorina	4'-O	0.3384	0.2937
Robinetina	4'-O	0.2912	0.2752
Quercetina	4'-O	0.2700	0.2553
Isoquercetina	4'-O	0.2768	0.2674
Quer. 3-O-neo.	4'-O	0.2826	0.2680
Quer. 3-O-rob.	4'-O	0.2802	0.2588
Rutina	4'-O	0.3007	0.2686
Homoorientina	4'-O	0.2819	0.2634
Lut. 7,3'-di-O-g.	4'-O	0.3025	0.2666
Vitexina	4'-O	0.3301	0.2891
Isovitexina	C8	0.2945	0.2526
Tangeretina	-	-	-
Daidzeina	4'-O	0.3419	0.2975
Genisteina	4'-O	0.3417	0.2967
Gliciteina	4'-O	0.3404	0.2980
Trolox	6-O	0.3184	0.3316

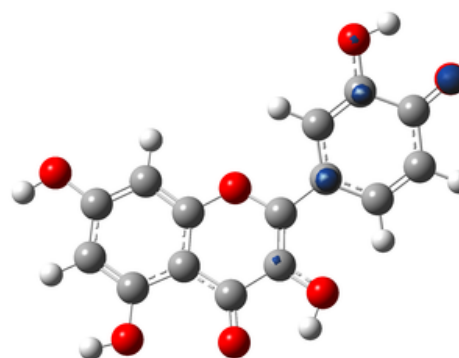
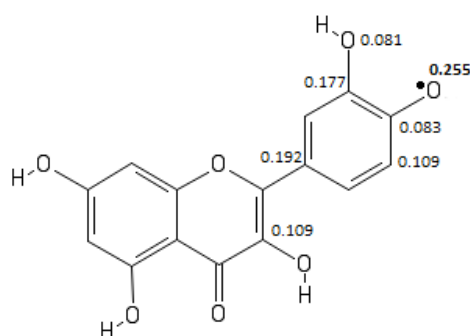
En el anexo C figuras C.1 a C.13 se muestran las regiones donde se encuentra una mayor probabilidad de encontrar al electrón desapareado. Se observa que los flavonoides radicalarios neutros, producidos en las vías *HAT*, *SEPT* Y *SPLET*, se caracterizan por distribuir una mayor densidad de espín a lo largo del anillo B (figura 4.14), por lo que hacen que esta zona se mantenga más reactiva. En cambio, en los flavonoides radicalarios catiónicos, producidos en la vía *SET*, una mayor distribución se expande a lo largo del anillo B o C, dependiendo de cada flavonoide (figura 4.15).

En los mecanismos *HAT*, *SEPT* y *SPLET* el electrón desapareado tiene una mayor probabilidad de permanecer en el O radicalizado en ambos medios (tabla 4.12 y figura 4.14). Los flavonoides radicalarios neutros que presentan mayor estabilidad por deslocalización electrónica en fase acuosa se ordenan como: quercetina > quercetina 3-O-robinobiosido > homoorientina > luteolina 7,3'-diglucósido > quercetina

Radical neutro de robinetina (4'-OH)



Radical neutro de quercetina (4'-OH)



**Figura 4.14:** Distribución de la densidad de espín de algunos flavonoides radicalarios neutros

3-O-neohesperidósido >rutina >robinetina.

Por otro lado, en el mecanismo *SET*, el electrón desapareado tiene una mayor probabilidad de reubicarse en un C distinto, donde la posición parece depender de la clase estructural a la que pertenece cada flavonoide (tabla 4.13 y figura 4.15). Esto puede deberse a que los radicales catiónicos producidos en esta vía tienden a reorganizar su estructura para formar carbocationes más estables, hasta encontrar un estado con un mayor efecto de resonancia (figura 4.16) e impedimento estérico.<sup>38</sup>

La presencia del doble enlace C2=C3 y del grupo oxo C4=O en el anillo C, y la sustitución del grupo fenilo en C2 o C3 parecen intervenir en la deslocalización electrónica de las especies cargadas. En fase acuosa, la predicción del átomo más reactivo ya no es tan desordenada, ya que en varios sistemas tiende a permanecer en el C unido al O radicalizado (C4' en la mayoría de casos). Al parecer, con la polaridad del agua la deslocalización electrónica no necesita un mayor reordenamiento estructural del carbocatión para estabilizarse.

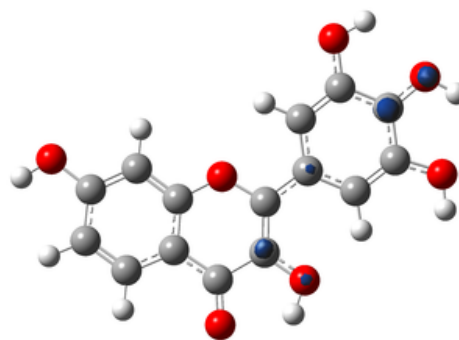
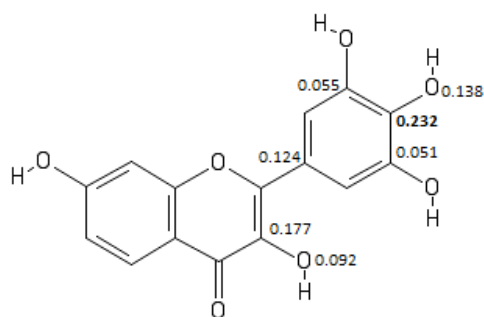
**Tabla 4.13:** Densidad de espín del átomo más reactivo en los flavonoides radicalarios catiónicos

Flavonoide	Átomo más reactivo		Densidad de espín	
	Gas	Acuosa	Gas	Acuosa
Catequina	C4'	C4'	0,2171	0.2164
Epicatequina	C10	C4'	0.3927	0.2180
Gallocatequina	C4'	C4'	0.3034	0.2869
Taxifolina	C4'	C4'	0.2159	0.2128
Kaempferol	C3	C3	0.2616	0.2755
Nicotiflorina	C8	C3	0.3498	0.2707
Robinetina	C3	C4'	0.2304	0.2318
Quercetina	C3	C3	0.2474	0.2474
Isoquercetina	C3	C4'	0.2633	0.2011
Quer. 3-O-neo.	C3	C4'	0.1831	0.1980
Quer. 3-O-rob.	C3	C4'	0.2609	0.1995
Rutina	C3	C4'	0.2992	0.1988
Homoorientina	C3	C4'	0.3495	0.2026
Lut. 7,3'-di-O-g.	C3	C1'	0.3108	0.2121
Vitexina	C3	C8	0.3853	0.4205
Isovitexina	C8	C8	0.3802	0.4231
Tangeretina	C3	C5	0.3814	0.1896
Daidzeina	C1'	C1'	0.1733	0.2188
Genisteina	C1'	C1'	0.1666	0.2126
Gliciteina	C1'	C6	0.1664	0.2152
Trolox	C6	C6	0.2208	0.2231

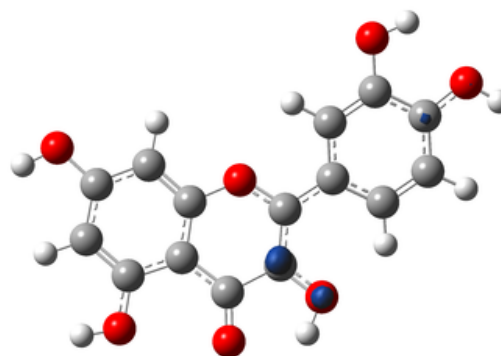
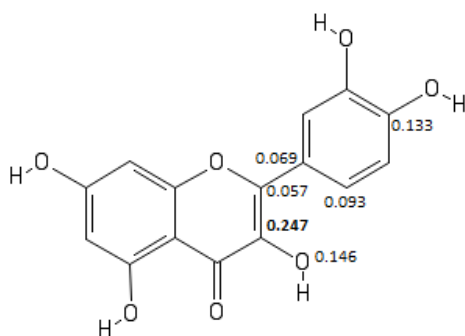
En efecto, los radicales catiónicos son más estables que los radicales neutros, ya que logran deslocalizar con mayor facilidad al electrón desapareado a lo largo de su estructura, lo cual hace que la densidad de espín del átomo más reactivo sea inferior. Esto tiene sentido si las formas radicalarias neutras tienen la posibilidad de alcanzar estructuras aún más estables, como las quinonas, tras una segunda reacción con especies radicalarias; tema que podría ser discutido en futuras investigaciones. Además, estos resultados muestran que los sistemas radicalarios se vuelven más estables si el electrón desapareado tiende a alojarse en un átomo de C que si permanece en el O. Los flavonoides radicalarios catiónicos con mayor capacidad de estabilizarse por deslocalización electrónica en fase acuosa se ordenan como: tangeretina > quercetina 3-O-neohesperidósido > rutina > quercetina 3-O-robinobiosido.

Las formas radicalarias de los glicósidos de quercetina, homoorientina y luteolina 7,3'-diglicósido son los que, mediante deslocalización electrónica, logran una mayor estabilización en fase acuosa como productos de todas las vías de reacción analizadas. Por otro lado, las formas radicalarias neutras de las isoflavonas y la de nicotiflorina son las que presentan menor estabilidad en fase acuosa, ya que no poseen un enlace

Radical catiónico de robinetina



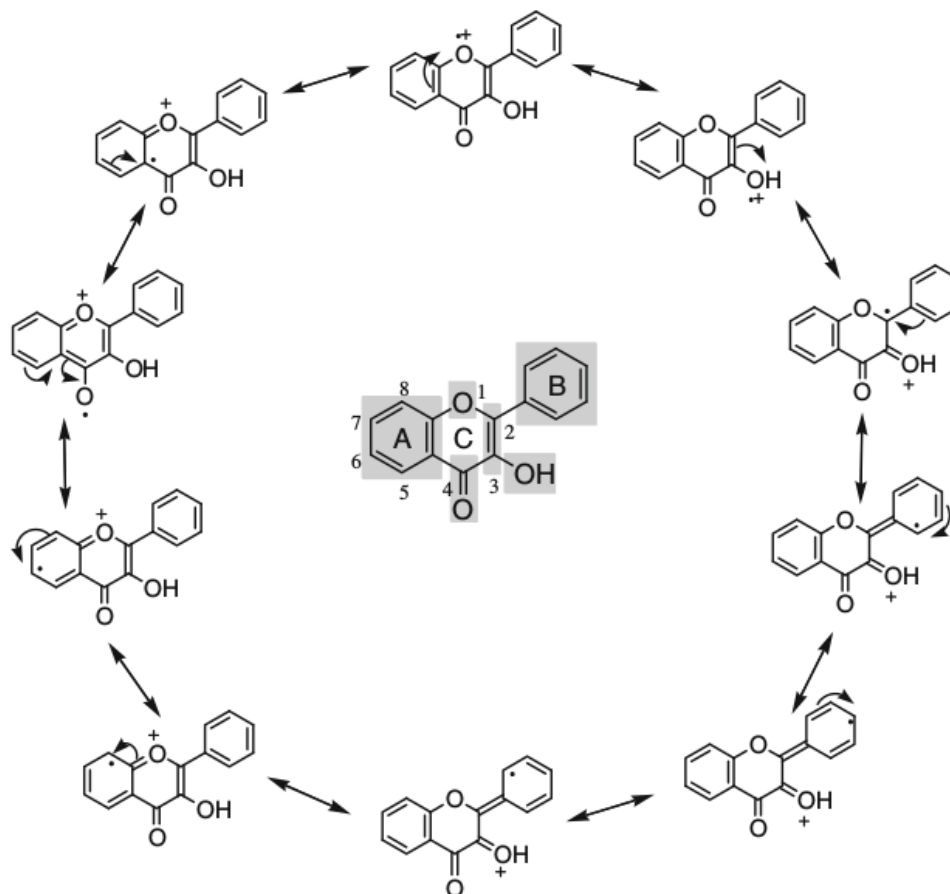
Radical catiónico de quercetina



**Figura 4.15:** Distribución de la densidad de espín de algunos flavonoides radicalarios catiónicos en fase acuosa

de H intramolecular en su sitio activo y tienen los más elevados valores de densidad de espín en el átomo de mayor reactividad. Además, sus valores de *BDE* son también los más altos. La forma radicalaria neutra del flavanol galocatequina, aunque tiene uno de los más bajos valores de *BDE*, presenta poca estabilidad por deslocalización del electrón desapareado en fase acuosa con un valor de densidad de espín máximo comparable al del Trolox.

En general, el grupo fenilo sustituido en C3 (en vez de C2) en las isoflavonas parece no favorecer su actividad ni la estabilidad de sus formas radicalarias neutras; pero, sí logra una mejor estabilidad por deslocalización electrónica únicamente en sus formas radicalarias catiónicas.



**Figura 4.16:** Estructuras resonantes de un flavonol radicalario catiónico simple

La relación estructura-actividad de los flavonoides analizados es compleja. Se requiere del análisis de una mayor cantidad de flavonoides de las diferentes clases estructurales para establecer una relación nítida. Sin embargo, de acuerdo a los resultados presentados hasta este punto, se ha logrado encontrar algunas semejanzas.

Los flavonoides que podrían exhibir la más alta capacidad antioxidante en fase acuosa mediante más de una vía de reacción son catequina, epicatequina, galocatequina, robinetina, quercetina y kaempferol. La presencia del grupo 3-OH que tienen en común estos flavanoles y flavonoles parece influir de forma positiva sobre su actividad en general, ya que los derivados glicosilados de quercetina y kaempferol, carentes de este grupo OH, no mostraron los mismos resultados. Estos aglicones son los que han mostrado menores requerimientos energéticos para ejercer una actividad antiradicalaria; por lo tanto, pueden considerarse como los mejores candidatos antioxidantes entre los flavonoides analizados. Además, las formas radicalarias neutras de quercetina y robinetina son también las que presentan mayor estabilidad.

La presencia o ausencia del  $C2=C3$  y  $C4=O$  no parece tener gran influencia en la actividad, pero sí en la estabilidad de los flavonoides resultantes.

Por otro lado, los flavonoides que podrían exhibir la más baja capacidad antioxidante en fase acuosa mediante más de dos vías de reacción son nicotiflorina, isovitexina y vitexina. Éstos tienen una estructura base muy similar que perjudica su actividad en general: carecen de un grupo  $3'-OH$ , sin la posibilidad de que su sitio activo pueda formar un enlace de H, y además, poseen diferentes glúcidos (un disacárido unido a kaempferol y un monosacárido unido a apigenina en diferentes posiciones para vitexina e isovitexina). Estos flavonoides glicosilados han mostrado los mayores requerimientos energéticos para ejercer una actividad antiradicalaria, por lo que pueden ser considerados como los peores candidatos antioxidantes entre los flavonoides analizados. Además, la forma radicalaria neutra de nicotiflorina y las formas radicalarias catiónicas de vitexina e isovitexina son unas de las que presentan menor estabilidad. Cabe resaltar que la estructura molecular de nicotiflorina es también una de las menos planas, ya que la disposición del glúcido (rutinosa) se interpone frente al esqueleto benzopirano del kaempferol (anexo A figura A.1 y A.4). Esta característica puede representar otro factor que afecta la actividad de este derivado glicosilado, disminuyendo abruptamente en comparación con la del aglicón.

Los flavonoides que muestran la más alta actividad antioxidante en fase gas mediante más de una vía de reacción son quercetina, isoquercetina y quercetina 3-O-robinobiósido. Por otro lado, los que presentan la menor actividad en más de una vía de reacción son nicotiflorina y vitexina. En fase gas, la actividad de los flavonoides varía mucho más entre mecanismos, por lo que es aún difícil establecer semejanzas.

Los índices de reactividad aportaron mayor información acerca de la capacidad de los flavonoides de actuar como aceptores de electrones. Estos índices coincidieron con la alta reactividad de quercetina 3-O-robinobiósido en fase gas y de quercetina, robinetina y tangeretina en fase acuosa al actuar como buenos donadores y aceptores de electrones en el mecanismo *SET*. Además, la elevada electronegatividad y electrofilicidad de nicotiflorina y vitexina coinciden con su baja actividad antioxidante, que aunque poseen una alta reactividad, al parecer ésta no se relaciona con las vías de reacción antioxidante más relevantes.

La flavona tangeretina representa un caso particular entre los flavonoides anali-

zados, ya que no posee ningún grupo OH, sino más bien contiene 5 sustituyentes metoxilo ( $O-CH_3$ ) en su estructura (anexo A figura A.3 y A.6). Debido a esto es que las únicas propiedades que lograron describir su actividad antioxidante fueron *IE*, *EA* y los descriptores de reactividad global. En la evaluación del mecanismo *SET* mostró una doble capacidad antiradicalaria en fase acuosa, siendo uno de los mejores donadores y aceptores de electrones. Su valor de *S* coincide con que es uno de los flavonoides más reactivos a la transferencia de carga. Además, la densidad de espín calculada en el átomo más reactivo (C3 en fase gas y C5 en fase acuosa) muestra que el radical catiónico producido en la vía *SET* es el más estable en este solvente. Los efectos producidos por estos grupos metoxilo sustituidos no han sido investigados aquí debido a que acarrea un análisis particular del caso.

El flavanonol taxifolina mostró una actividad no muy relevante en comparación con los flavanoles y los aglicones de flavonoles. Éste presenta un grupo 3-OH, un grupo  $C4=O$  y un enlace simple C2-C3, además del grupo 3'-OH al costado de su sitio activo (anexo A figura A.1 y A.4. Al parecer esta configuración particular limita que su actividad antioxidante sea destacable, como lo es en otras estructuras similares que presentan además un doble enlace entre C2 y C3 (flavonoles), o que carecen de éste y del  $C4=O$  al mismo tiempo (flavanoles).

Numerosas investigaciones habían ya comprobado la alta capacidad antioxidante de los flavonoles quercetina y kaempferol.<sup>60</sup> En este estudio, se ha encontrado que galocatequina y robinetina, que han sido poco investigados debido a su ausencia en la mayoría de fuentes naturales investigadas, muestran una alta actividad antioxidante. Una característica particular es la presencia estructural de un pirogalol en el anillo B, donde su sitio activo forma un enlace de H con 5'-OH en lugar de hacerlo con 3'-OH. Estos flavonoides podrían ser eficientemente utilizados como candidatos antioxidantes y potencializar el uso de las hojas de *A. muricata* dentro del campo de alimentos funcionales y suplementos antioxidantes. Este estudio incentiva a realizar futuras investigaciones que respalden y amplíen estos hallazgos.

Aunque no se ha encontrado una relación clara entre la presencia, posición o cantidad de los glúcidos unidos a los flavonoides con su actividad antiradicalaria, en tendencia, se ha observado que los requerimientos energéticos de estos derivados glicosilados son superiores a los de los aglicones en solvatación con agua, e inde-

pendientemente de la vía de reacción. El ejemplo más visible es el de quercetina, donde su correspondiente aglicón posee una elevada actividad en comparación con sus derivados glicosilados (sustituidos en la posición 3). En fase gas, la actividad antiradicalaria tiende a ser más pareja, como en el caso de la donación electrónica de quercetina y sus glicósidos desde su forma neutra; pero esta relación sigue siendo aún muy poco predecible en el resto de flavonoides. Algunas investigaciones mencionan que las estructuras planares radicalarias, como las de los aglicones, tienden a ser más estables, ya que favorecen la deslocalización electrónica y las cargas negativas a lo largo de una molécula, a diferencia de los flavonoides glicosilados.<sup>34</sup>

La capacidad antioxidante del grupo de flavonoides presentes en las hojas de *A. muricata* ha sido evaluada mediante la reactividad y estabilidad de cada flavonoide por separado, por lo que no se han considerado los efectos de sinergismo, aditivismo o antagonismo que puede poseer un grupo de flavonoides al encontrarse en extractos o mezclas. La falta de información acerca de la concentración de cada flavonoide en las hojas de esta planta es aún un limitante dentro del estudio de su actividad antiradicalaria. Sin embargo, los resultados obtenidos en esta investigación sirven como base para evaluar tales efectos en la práctica y pueden ayudar a interpretar diferencias entre resultados experimentales.

Finalmente, a pesar de encontrarse una alta capacidad antioxidante en algunos de los flavonoides presentes en las hojas de *A. muricata*, estos aún no superan la capacidad presentada por el estándar antioxidante Trolox, bajo los medios de reacción y condiciones utilizadas.

## Conclusiones

1. Las estructuras moleculares de partida de los 20 flavonoides presentes en las hojas de *A. muricata* fueron generadas mediante herramientas computacionales.
2. Las estructuras moleculares iniciales de los 20 flavonoides fueron optimizadas bajo el enfoque del método *DFT*, obteniéndose los estados fundamentales que aseguran su semejanza con moléculas reales.
3. Las estructuras aniónicas y radicalarias generadas en cada mecanismo de reacción antioxidante fueron optimizadas bajo el mismo enfoque computacional.
4. Las propiedades de reactividad *BDE*, *IE*, *EA*, *PDE*, *PA* y *ETE* fueron usadas para describir la relación estructura-actividad de los flavonoides en cada mecanismo antioxidante desde un enfoque termodinámico, considerando también los efectos de solvatación en agua a 298.15 K y pH neutro. Se encontró que los flavanoles catequina, epicatequina y galocatequina, y los flavonoles robinetina, quercetina y kaempferol son los que exhiben la más alta capacidad antioxidante en fase acuosa mediante más de un mecanismo de reacción, donde la presencia de un catecol o pirogalol en el anillo B tiene una influencia favorable sobre su actividad. Por otro lado, el flavonol nicotiflorina y las flavonas vitexina e isovitexina mostraron la más baja capacidad antioxidante en fase acuosa mediante más de dos vías de reacción. Además, los flavonoides glicosilados en las posiciones O3, C6, C8 y C3' mostraron en general una capacidad antioxidante inferior a la de los aglicones en solvatación.
5. Se encontró una correlación inversa fuerte entre las propiedades calculadas y porcentajes de actividad antioxidante reportados experimentalmente. De

acuerdo a estos resultados, los flavonoides analizados tienen una mayor factibilidad de reaccionar mediante el mecanismo *HAT* en fase gas y en solvatación con agua, seguido del mecanismo *SPLET* y luego el mecanismo *SET*.

6. Los índices de reactividad global mostraron características químicas generales de los flavonoides analizados, aportando mayor información acerca de la naturaleza de los flavonoides como aceptores de electrones, la cual en general tuvo poca influencia sobre su capacidad antioxidante de acuerdo a lo evaluado en las propiedades de reactividad intrínseca.
7. La reducción de la longitud del enlace de hidrógeno intramolecular en el sitio activo mostró una correlación inversa fuerte con los bajos requerimientos energéticos para la vía *HAT*, donde la presencia del catecol o pirogalol en el anillo B tiene también una influencia importante sobre la estabilidad de los flavonoides radicalarios.
8. La distribución de la densidad de espín en los flavonoides analizados es superior en solvatación con agua, donde los radicales catiónicos producidos en la vía *SET* muestran una mayor estabilidad por deslocalización del electrón desapareado que en los radicales neutros producidos en la vía *HAT*. Quercetina y robinetina son dos de los flavonoides que exhiben tanto una alta capacidad antioxidante como una alta capacidad de estabilización luego de reaccionar.
9. En resumen, fue factible evaluar la capacidad antioxidante de los flavonoides presentes en las hojas de *A. muricata* (Guanábana) mediante química computacional. Los resultados obtenidos pueden complementar actuales y futuros estudios experimentales ya que enriquecen la interpretación de los mismos a nivel molecular.

## Recomendaciones

1. Trabajar con los estados de transición de los flavonoides frente a diferentes radicales libres, para calcular las correspondientes constantes de velocidad ( $k$ ) y evaluar la actividad antiradicalaria desde el punto de vista cinético.
2. Evaluar el efecto de solvatación con medios menos polares, como metanol o etanol, debido a que son utilizados en diferentes ensayos experimentales y en la extracción de flavonoides. Así sería posible correlacionar mayor cantidad de datos teóricos y prácticos.
3. Evaluar los efectos de temperaturas cercanas a la fisiológica sobre las propiedades analizadas y por ende sobre la actividad antioxidante.
4. Para evaluar la factibilidad de reacción frente a radicales libres específicos desde el punto de vista termodinámico, es posible incluir términos energéticos de diferentes radicales libres (productos-sustratos) dentro de las formulaciones de las propiedades *BDE* e *IP*. Recordando que la actividad obtenida a partir de estas ecuaciones modificadas es proporcional a la que se obtiene si se trabaja sólo con las moléculas antioxidantes, como en este estudio.
5. Comparar los resultados obtenidos al trabajar con la funcional CAM-B3LYP, con la cual se deben obtener también resultados muy exactos.

## Referencias Bibliográficas

- [1] Márcio Carochó and Isabel C.F.R. Ferreira. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology*, 51(1):15–25, 2013. ISSN 02786915. doi: 10.1016/j.fct.2012.09.021.
- [2] Vicente Sánchez-valle and Nahum Méndez-sánchez. Estrés oxidativo, antioxidantes y enfermedad. *Rev Invest Med Sur Mex*, 20(3):161–168, 2013.
- [3] E. Ginter, V. Simko, and V. Panakova. Antioxidants in health and disease, 2014. ISSN 00069248.
- [4] Marta Coronado, Salvador Vega y León, Rey Gutiérrez, Marcela Vázquez, and Claudia Radilla. Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Revista chilena de nutrición*, 42(2):206–212, 2015. ISSN 07177518.
- [5] Annia Galano. Free Radicals Induced Oxidative Stress at a Molecular Level: The Current Status, Challenges and Perspectives of Computational Chemistry Based Protocols. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 59(4):231–262, 2015. ISSN 1870-249X.
- [6] Nadine Schneider, Daniel M. Lowe, Roger A. Sayle, Michael A. Tarselli, and Gregory A. Landrum. Big Data from Pharmaceutical Patents: A Computational Analysis of Medicinal Chemists Bread and Butter. *Journal of Medicinal Chemistry*, 59(9):4385–4402, 2016. ISSN 15204804. doi: 10.1021/acs.jmedchem.6b00153.
- [7] Timothy J. Ritchie and Iain M. McLay. Should medicinal chemists do molecular modelling?, 2012. ISSN 13596446.

- [8] Vijai Singh and Indra Mani. Role of Bioinformatics in Biotechnology. *ResearchGate*, (November):12, 2014.
- [9] Fereidoon Shahidi. Antioxidants in food and food antioxidants. *Molecular nutrition & food research*, 44(3):158–163, 2000. ISSN 0027-769X. doi: 10.1002/1521-3803(20000501)44:3<158::AID-FOOD158>3.0.CO;2-L.
- [10] V D Kancheva and O T Kasaikina. Bio-antioxidants - a chemical base of their antioxidant activity and beneficial effect on human health. *Current medicinal chemistry*, 20(37):4784–805, 2013. ISSN 1875-533X.
- [11] Soheil Zorofchian Moghadamtousi, Mehran Fadaeinasab, Sonia Nikzad, Gokula Mohan, Hapipah Mohd Ali, and Habsah Abdul Kadir. *Annona muricata* (Annonaceae): A review of its traditional uses, isolated acetogenins and biological activities, 2015. ISSN 14220067.
- [12] Ana V. Coria-Télez, Efigenia Montalvo-González, Elhadi M. Yahia, and Eva N. Obledo-Vázquez. *Annona muricata*: A comprehensive review on its traditional medicinal uses, phytochemicals, pharmacological activities, mechanisms of action and toxicity. *Arabian Journal of Chemistry*, 2016. ISSN 1878-5352.
- [13] Asif Khurshid Qazi, Jawed A Siddiqui, Rahat Jahan, Sanjib Chaudhary, Larry A Walker, Zafar Sayed, Dwight T Jones, Surinder K Batra, and Muzafer A Macha. Emerging therapeutic potential of graviola and its constituents in cancers. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*, (March):1–12, 2018. ISSN 0143-3334.
- [14] Kingsley C. Agu and Paulinus N. Okolie. Proximate composition, phytochemical analysis, and in vitro antioxidant potentials of extracts of *Annona muricata* (Soursop). *Food Science and Nutrition*, 5(5):1029–1036, 2017. ISSN 20487177. doi: 10.1002/fsn3.498.
- [15] Rybczynska M. Biochemical aspects of free radical mediated tissue injury. *Postepy Hig Med Dows*, 48(4):419–41, 1994.

- [16] T. Céspedes and D. Sánchez. Algunos aspectos sobre el estrés oxidativo, el estado antioxidante y la terapia de suplementación. *Revista Cubana De Cardiología Y Cirugía Cardiovascular*, 14(1):55, 2000. ISSN 1561-2937.
- [17] Rosa Mayor Oxilia. Estrés Oxidativo y Sistema de Defensa Antioxidante. *Inst. Med. Trop*, 5(2):23–29, 2010. ISSN 19963696.
- [18] Maira María Muñoz Ariza Lucía Constanza Corrales. Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno. *Nova - Publicación Científica en Ciencias Biomédicas -Issn*, 10(18):213–225, 2012.
- [19] T F Slater. Free-Radical Mechanisms in Tissue Injury Alkylating Intermediates in Nitrosamine Metabolism. *ResearchGate*, page 1975, 1975.
- [20] Anu Rahal, Amit Kumar, Vivek Singh, Brijesh Yadav, Ruchi Tiwari, Sandip Chakraborty, and Kuldeep Dhama. Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: The interplay. *BioMed Research International*, 2014, 2014. ISSN 23146133. doi: 10.1155/2014/761264.
- [21] Cap Justo and R Venereo Gutiérrez. DAÑO OXIDATIVO , RADICALES LIBRES Y ANTIOXIDANTES. 31(2):126–133, 2002.
- [22] C Iuga, J R Alvarez-Idaboy, and N Russo. Antioxidant activity of trans-resveratrol toward hydroxyl and hydroperoxyl radicals: a quantumchemical and computational kinetics study. *J Org Chem*, 77, 2012.
- [23] D. Procházková, I. Boušová, and N. Wilhelmová. Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. *Fitoterapia*, 82(4):513–523, 2011. ISSN 0367326X. doi: 10.1016/j.fitote.2011.01.018.
- [24] Víctor M. Jiménez, Maike Gruschwitz, Ralf M. Schweiggert, Reinhold Carle, and Patricia Esquivel. Identification of phenolic compounds in soursop (*Annona muricata*) pulp by high-performance liquid chromatography with diode array and electrospray ionization mass spectrometric detection. *Food Research International*, 65(PA):42–46, 2014. ISSN 09639969. doi: 10.1016/j.foodres.2014.05.051.

- [25] Fereidoon Shahidi and Ying Zhong. Measurement of antioxidant activity, 2015. ISSN 17564646.
- [26] Dragan Amić, Višnja Stepanić, Bono Lučić, Zoran Marković, and Jasmina M. Dimitrić Marković. PM6 study of free radical scavenging mechanisms of flavonoids: Why does O-H bond dissociation enthalpy effectively represent free radical scavenging activity? *Journal of Molecular Modeling*, 19(6):2593–2603, 2013. ISSN 16102940. doi: 10.1007/s00894-013-1800-5.
- [27] Annia Galano, Gloria Mazzone, Ruslán Alvarez-Diduk, Tiziana Marino, J. Raúl Alvarez-Idaboy, and Nino Russo. Food Antioxidants: Chemical Insights at the Molecular Level. *Annual Review of Food Science and Technology*, 7(1):335–352, 2016. ISSN 1941-1413.
- [28] R. Kheirabadi and M. Izadyar. A theoretical study on the structure-radical scavenging activity of some hydroxyphenols. *Physical Chemistry Research*, 4(1), 2016. ISSN 23452625.
- [29] Di Zhang, Yixiang Liu, Le Chu, Ying Wei, Dan Wang, Shengbao Cai, Feng Zhou, and Baoping Ji. Relationship between the structures of flavonoids and oxygen radical absorbance capacity values: A quantum chemical analysis. *Journal of Physical Chemistry A*, 117(8):1784–1794, 2013. ISSN 10895639. doi: 10.1021/jp307746c.
- [30] Ronald L. Prior. Oxygen radical absorbance capacity (ORAC): New horizons in relating dietary antioxidants/bioactives and health benefits. *Journal of Functional Foods*, 18:797–810, 2015. ISSN 17564646.
- [31] A. Om and J.H. Kim. A Quantitative Structure-Activity Relationship Model for Radical Scavenging Activity of Flavonoids. *Journal of Medicinal Food*, 11(1):29–37, 2008. ISSN 1096-620X.
- [32] Dragan Amić, Bono Lučić, Goran Kovačević, and Nenad Trinajstić. Bond dissociation enthalpies calculated by the PM3 method confirm activity cliffs in radical scavenging of flavonoids. *Molecular Diversity*, 13(1):27–36, 2009. ISSN 13811991. doi: 10.1007/s11030-008-9095-7.

- [33] Ana María Mendoza-Wilson, Graciela Dolores Ávila-Quezada, René Renato Balandrán-Quintana, Daniel Glossman-Mitnik, and Saúl Ruiz-Cruz. Characterization of the semiquinones and quinones of (-)-epicatechin by means of computational chemistry. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*, 897 (1-3):6–11, 2009. ISSN 01661280.
- [34] Monica Leopoldini, Nino Russo, and Marirosa Toscano. The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. *Food Chemistry*, 125(2):288–306, 2011. ISSN 03088146.
- [35] Agustín López-Munguía, Yanet Hernández-Romero, José Pedraza-Chaverri, Alfonso Miranda-Molina, Ignacio Regla, Ana Martínez, and Edmundo Castillo. Phenylpropanoid glycoside analogues: Enzymatic synthesis, antioxidant activity and theoretical study of their free radical scavenger mechanism. *PLoS ONE*, 6(6):11–18, 2011. ISSN 19326203. doi: 10.1371/journal.pone.0020115.
- [36] Milan Mladenović, Mirjana Mihailović, Desanka Bogojević, Sanja Matić, Neda Nićiforović, Vladimir Mihailović, Nenad Vuković, Slobodan Sukdolak, and Slavica Solujić. In vitro antioxidant activity of selected 4-hydroxy-chromene-2-one derivatives-SAR, QSAR and DFT studies. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(5):2822–2841, 2011. ISSN 14220067. doi: 10.3390/ijms12052822.
- [37] Laure Lespade and Sylvie Bercion. Theoretical investigation of the effect of sugar substitution on the antioxidant properties of flavonoids. *Free Radical Research*, 46(3):346–358, 2012. ISSN 10292470. doi: 10.3109/10715762.2012.658514.
- [38] Anna P.S. Mendes, Rosivaldo S. Borges, Antonio M.J.Chaves Neto, Luiz G.M. De Macedo, and Albérico B.F. Da Silva. The basic antioxidant structure for flavonoid derivatives. *Journal of Molecular Modeling*, 18(9):4073–4080, 2012. ISSN 16102940. doi: 10.1007/s00894-012-1397-0.
- [39] Ananda Sarkar, Tapas Ranjan Middy, and Atish Dipnakar Jana. A QSAR study of radical scavenging antioxidant activity of a series of flavonoids using DFT based quantum chemical descriptors - The importance of group frontier

- electron density. *Journal of Molecular Modeling*, 18(6):2621–2631, 2012. ISSN 16102940. doi: 10.1007/s00894-011-1274-2.
- [40] Zbigniew Sroka, Beata Żbikowska, and Jerzy Hładyszowski. The antiradical activity of some selected flavones and flavonols. Experimental and quantum mechanical study. *Journal of Molecular Modeling*, 21(12), 2015. ISSN 09485023. doi: 10.1007/s00894-015-2848-1.
- [41] Yuzhen Chen, Huizhi Xiao, Jie Zheng, and Guizhao Liang. Structure-thermodynamics-antioxidant activity relationships of selected natural phenolic acids and derivatives: An experimental and theoretical evaluation. *PLoS ONE*, 10(3):1–20, 2015. ISSN 19326203. doi: 10.1371/journal.pone.0121276.
- [42] Yan Zhen Zheng, Geng Deng, Qin Liang, Da Fu Chen, Rui Guo, and Rong Cai Lai. Antioxidant activity of quercetin and its glucosides from propolis: A theoretical study. *Scientific Reports*, 7(1):1–11, 2017. ISSN 20452322.
- [43] Delgado Olivares Luis, Betanzos Cabrera Gabriel, and Sumaya Martínez Teresa. Importancia de los antioxidantes dietarios en la disminución del estrés oxidativo. *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal*, 50(September):10 –15, 2010. ISSN 16579267. doi: 10.5565/rev/athenea.1697.
- [44] Mahmoud Rafeian-Kopaei, Azar Baradaran, and Morteza Rafeian. Plants antioxidants: From laboratory to clinic. *Journal of nephropathology*, 2(2):152–3, 2013. ISSN 2251-8363.
- [45] Stephen O Adewole and Ezekiel A Caxton-Martins. Morphological changes and hypoglycemic effects of *Annona muricata* linn.(annonaceae) leaf aqueous extract on pancreatic beta-cells of streptozotocin-treated diabetic rats. *African Journal of Biomedical Research*, 9(3), 2006.
- [46] Usunobun Usunomena and Okolie N. Paulinus. Phytochemical Analysis and Mineral Composition of *Annona Muricata* Leaves. *International Journal of Research and Development*, 1(1):38–42, 2015.

- [47] Polo Quineche and Elizabeth Maria. Estrategias competitivas y exportación de la Guanábana (*annona muricata*) peruana 2008-2017. *Respositorio UCV*, pages 63–71, 2017.
- [48] Justine Correa, Darwin Ortíz, Jesús Larrahondo, Myriam Sánchez, and Helena Pachón. Actividad antioxidante en guanábana (*Annona muricata* L.): una revisión bibliográfica. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 11(2):111–126, 2012. ISSN 07177917.
- [49] V. Cijo George, D. R.Naveen Kumar, P. K. Suresh, and R. Ashok Kumar. Antioxidant, DNA protective efficacy and HPLC analysis of *Annona muricata* (soursop) extracts. *Journal of Food Science and Technology*, 52(4):2328–2335, 2015. ISSN 09758402. doi: 10.1007/s13197-014-1289-7.
- [50] Santhoshkumar Muthu and Brindha Durairaj. Evaluation of antioxidant and free radical scavenging activity of *Annona muricata*. *European Journal of Experimental Biology*, 5(3):39–45, 2015. ISSN 2347565X. doi: 10.9734/ARRB/2017/34349.
- [51] TK Sujayil and TS Dhanaraj. Determination of bioactive compounds in *Evolvulus alsinoides* leaf extract using GC-MS technique. *Research Journal of Life Sciences, Bioinformatics, Pharmaceutical and Chemical Sciences*, 2:34–38, 2016.
- [52] Syed Najmuddin and Nik Abd Rahman. Comparative Study of Antioxidant Level and Activity from Leaf Extracts of *Annona muricata* Linn Obtained from Different Locations. *Agric. Sci*, 40(1):119–130, 2017. ISSN 1511-3701.
- [53] Leslie A. Weston and Ulrike Mathesius. Flavonoids: Their Structure, Biosynthesis and Role in the Rhizosphere, Including Allelopathy. *Journal of Chemical Ecology*, 39(2):283–297, 2013. ISSN 00980331. doi: 10.1007/s10886-013-0248-5.
- [54] Jianbo Xiao. Dietary flavonoid aglycones and their glycosides: Which show better biological significance?, 2017. ISSN 15497852.
- [55] Kaushik Das and Aryadeep Roychoudhury. Reactive oxygen species (ROS)

- and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. *Frontiers in Environmental Science*, 2, 2014. ISSN 2296-665X.
- [56] Anton R. Schäffner. Flavonoid biosynthesis and Arabidopsis genetics: More good music. *Journal of Experimental Botany*, 67(5):1203–1204, 2016. ISSN 14602431. doi: 10.1093/jxb/erw050.
- [57] Cecilia A. McIntosh and Daniel K. Owens. Advances in flavonoid glycosyl-transferase research: integrating recent findings with long-term citrus studies, 2016. ISSN 1572980X.
- [58] S. Martínez-Flórez, J. González-Gallego, J. M. Culebras, and María Jesús Tuñón. Los flavonoides: Propiedades y acciones antioxidantes, 2002. ISSN 02121611.
- [59] D de Beer, E Joubert, Wentzel C a Gelderblom, and M Manley. Phenolic compounds: a review of their possible role as in vivo antioxidants of wine. *South African Journal for ...*, 23(2):48–61, 2002.
- [60] Ilhami Gülçin. Antioxidant activity of food constituents: An overview, 2012. ISSN 03405761.
- [61] Jianbo Xiao, Esra Capanoglu, Amir Reza Jassbi, and Anca Miron. Advance on the Flavonoid C-glycosides and Health Benefits. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(October):S29–S45, 2016. ISSN 15497852. doi: 10.1080/10408398.2015.1067595.
- [62] Gabriel L.C. de Souza, Leonardo M.F. de Oliveira, Rafael G. Vicari, and Alex Brown. A DFT investigation on the structural and antioxidant properties of new isolated interglycosidic O-(1 → 3) linkage flavonols. *Journal of Molecular Modeling*, 22(4), 2016. ISSN 09485023.
- [63] Dan Yang, Haihui Xie, Xuchao Jia, and Xiaoyi Wei. Flavonoid C-glycosides from star fruit and their antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*, 16 (June):204–210, 2015. ISSN 17564646.
- [64] Orlando Cartaya and Inés Reynaldo. Flavonoides: características químicas y aplicaciones. *Cultivos Tropicales*, 22(2):5 – 14, 2001. ISSN 0258-5936.

- [65] Rhonda S. Sebastian, Cecilia Wilkinson Enns, Joseph D. Goldman, Lois C. Steinfeldt, Carrie L. Martin, John C. Clemens, Theophile Murayi, and Alanna J. Moshfegh. New, publicly available flavonoid data products: Valuable resources for emerging science, 2017. ISSN 08891575.
- [66] Shun Chiao Chang, Aedin Cassidy, Walter C. Willett, Eric B. Rimm, Eilis J. O'Reilly, and Olivia I. Okereke. Dietary flavonoid intake and risk of incident depression in midlife and older women. *American Journal of Clinical Nutrition*, 104(3):704–714, 2016. ISSN 19383207. doi: 10.3945/ajcn.115.124545.
- [67] Kerry L. Ivey, Majken K. Jensen, Jonathan M. Hodgson, A. Heather Eliassen, Aedín Cassidy, and Eric B. Rimm. Association of flavonoid-rich foods and flavonoids with risk of all-cause mortality. *British Journal of Nutrition*, 117(10):1470–1477, 2017. ISSN 0007-1145.
- [68] Pier Giorgio Pietta. Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63(7):1035–1042, 2000. ISSN 01633864.
- [69] Mwacham M. Kabanda, Liliana Mammimo, Lutendo C. Murulana, Henry M. Mwangi, and Wilfred T. Mabusela. Antioxidant Radical Scavenging Properties of Phenolic Pent-4-En-1-Yne Derivatives Isolated From *Hypoxis Rooperi*. A DFT Study in vacuo and in Solution. *International Journal of Food Properties*, 18(1):149–164, 2015. ISSN 15322386. doi: 10.1080/10942912.2013.825842.
- [70] Hans Primas. *Chemistry, quantum mechanics, and reductionism : perspectives in theoretical chemistry*. Number 24. 1981. ISBN 0387106960 (U.S. pbk.). doi: 10.1119/1.13329.
- [71] Christopher J Cramer. *Essentials of Computational Chemistry Theories and Models*, volume 42. 2004. ISBN 0470091819.
- [72] Lewars E. G. *Computational Chemistry: Introduction to the Theory and Applications of Molecular and Quantum Mechanics*. 2011. ISBN 978-90-481-3862-3. doi: 10.1007/978-90-481-3862-3.
- [73] Leslie E Ballentine. Quantum Mechanics - A Modern Development - L. Ballentine.pdf, 1998. ISSN 00319228.

- [74] Ileana María Greca and Victoria Elnecave Herscovitz. Construyendo significados en mecánica cuántica: fundamentación y resultados de una propuesta innovadora para su introducción en el nivel universitario. *Enseñanza de las ciencias. Barcelona, Espanha. Vol. 20, no. 2 (abr./jun. 2002), p. 327-338, 2002.*
- [75] Shahen Hacyan. On the transcendental ideality of space and time in modern physics, 2006. ISSN 00228877.
- [76] David Young. *Computational Chemistry: A Practical Guide for Applying Techniques to Real World Problems*, volume 9. 2004. ISBN 0471458430.
- [77] Ira N. LEVINE. Quantum Chemistry, 2014. ISSN 0100-4042.
- [78] Frank Jensen. *Introduction to Computational Chemistry*. 2007. ISBN 0470058048.
- [79] Julio Gratton. Introducción a la Mecánica Cuántica. *Instituto de Física del Plasma*, page 268, 2003.
- [80] Frederic; P. Miller; Agnes F. Vandome; John McBrewste. *Enthalpy*. VDM Publishing, 2009. ISBN 6130232624, 9786130232627.
- [81] Alyssa Ney, David Z Albert, and Craig Callender. *The Wave Function: Essays on the Metaphysics of Quantum Mechanics*. 2013.
- [82] Andrew R Leach. *Molecular modelling : principles and applications*, 2001. ISSN 00978485.
- [83] Frank Neese. Density functional theory. pages 443–453, 2009. doi: 10.1007/s11120-009-9404-8.
- [84] Jesús M. López, Adolfo E. Ensuncho, and Juana R. Robles. Descriptores globales y locales de la reactividad para el diseño de nuevos fármacos anticancerosos basados en cis-platino(II). *Quimica Nova*, 36(9):1308–1317, 2013. ISSN 01004042. doi: 10.1590/S0100-40422013000900006.
- [85] Wolfram Koch and Max C. Holthausen. *A Chemist's Guide to Density Functional Theory*, volume 3. 2001. ISBN 3527303723.

- [86] Jan K.; Andzelm and Labanowski Jan W. *Density Functional Methods in Chemistry*. Springer, 1991. doi: 10.1007/978-1-4612-3136-3.
- [87] Eberhard Engel and Reiner M. Dreizler. *Density Functional Theory*. 2011. ISBN 978-3-642-14089-1.
- [88] Gerald Cartmell, Edward; Wilfred Albert Fowles. Valencia y estructura molecular : introducción a la teoría cuántica de la valencia y su aplicación a la química estructural. 2017.
- [89] Eberhard Engel and Reiner M. Dreizler. Density Functional Theory: An Advanced Course. *Theoretical and Mathematical Physics*, 2011(5):499–515, 2011. ISSN 18645879.
- [90] Jeng Da Chai and Martin Head-Gordon. Systematic optimization of long-range corrected hybrid density functionals. *Journal of Chemical Physics*, 128(8):1–15, 2008. ISSN 00219606. doi: 10.1063/1.2834918.
- [91] Frank Jensen. Atomic orbital basis sets. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*, 3(3):273–295, 2013. ISSN 17590876. doi: 10.1002/wcms.1123.
- [92] Tamar Schlick. *Molecular Modeling and Simulation: An Interdisciplinary Guide*. 21, 2010. ISSN 9780387877075.
- [93] K. I. Ramachandran, G. Deepa, and K. Namboori. *Computational Chemistry and Molecular Modeling*. 2008. ISBN 978-3-540-77302-3.
- [94] R. Vijayaraj, V. Subramanian, and P. K. Chattaraj. Comparison of global reactivity descriptors calculated using various density functionals: A QSAR perspective. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 5(10):2744–2753, 2009. ISSN 15499618. doi: 10.1021/ct900347f.
- [95] Changho Jhin, Chu Won Nho, and Keum Taek Hwang. Adaptive neuro-fuzzy inference system-applied QSAR with bond dissociation energy for antioxidant activities of phenolic compounds. *Archives of Pharmacal Research*, 40(10):1146–1155, 2017. ISSN 19763786. doi: 10.1007/s12272-017-0944-8.

- [96] Adolfo E. Ensuncho, Jesús M. López, and Juana Robles. Reactividad química de los azo colorantes amarillo anaranjado y rojo allura mediante descriptores globales y la función de fukui. *Informacion Tecnologica*, 23(6):3–12, 2012. ISSN 07168756. doi: 10.4067/S0718-07642012000600002.
- [97] Kelly H. Zou, Kemal Tuncali, and Stuart G. Silverman. Correlation and Simple Linear Regression. *Radiology*, 227(3):617–628, 2003. ISSN 0033-8419.
- [98] Stanislaw Burda and Wieslaw Oleszek. Antioxidant and Antiradical Activities of Flavonoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(JULY 2001): 2774–2779, 2001. ISSN 0021-8561.
- [99] Alejandro Piedras, Badhin Gómez, Javier Carmona-Espíndola, Rubén Arroyo, and José L Gázquez. Intramolecular charge transfer model in fluorescence processes. *Theoretical Chemistry Accounts*, 135(10):243, 2016.
- [100] Jeffrey R. Johns and James A. Platts. Theoretical insight into the antioxidant properties of melatonin and derivatives. *Org. Biomol. Chem.*, 12(39):7820–7827, 2014. ISSN 1477-0520.
- [101] WH Zachariasen. The Liquid“Structure”of Methyl Alcohol. *The Journal of Chemical Physics*, 3(3):158–161, 1935.

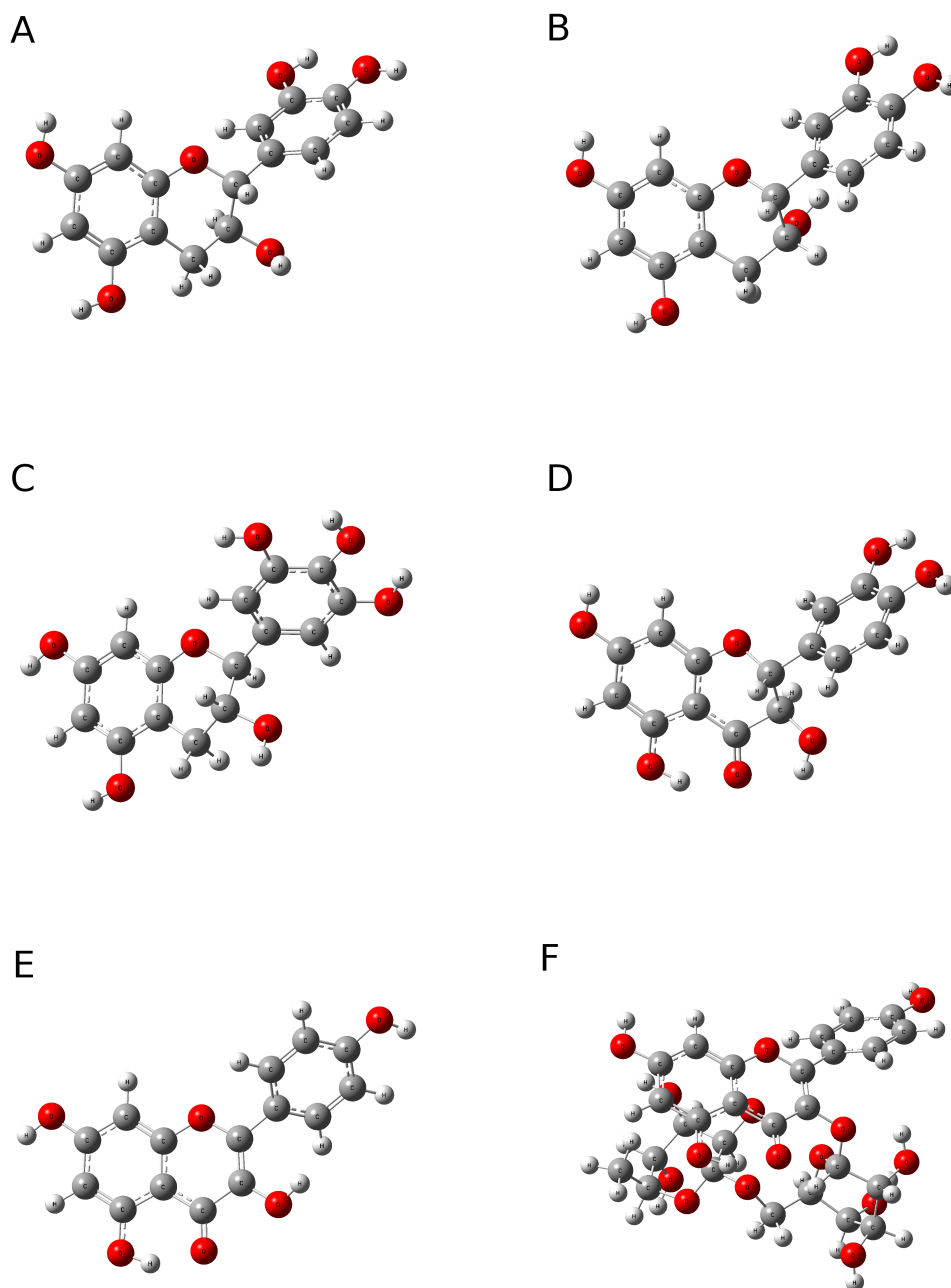


## Anexo A

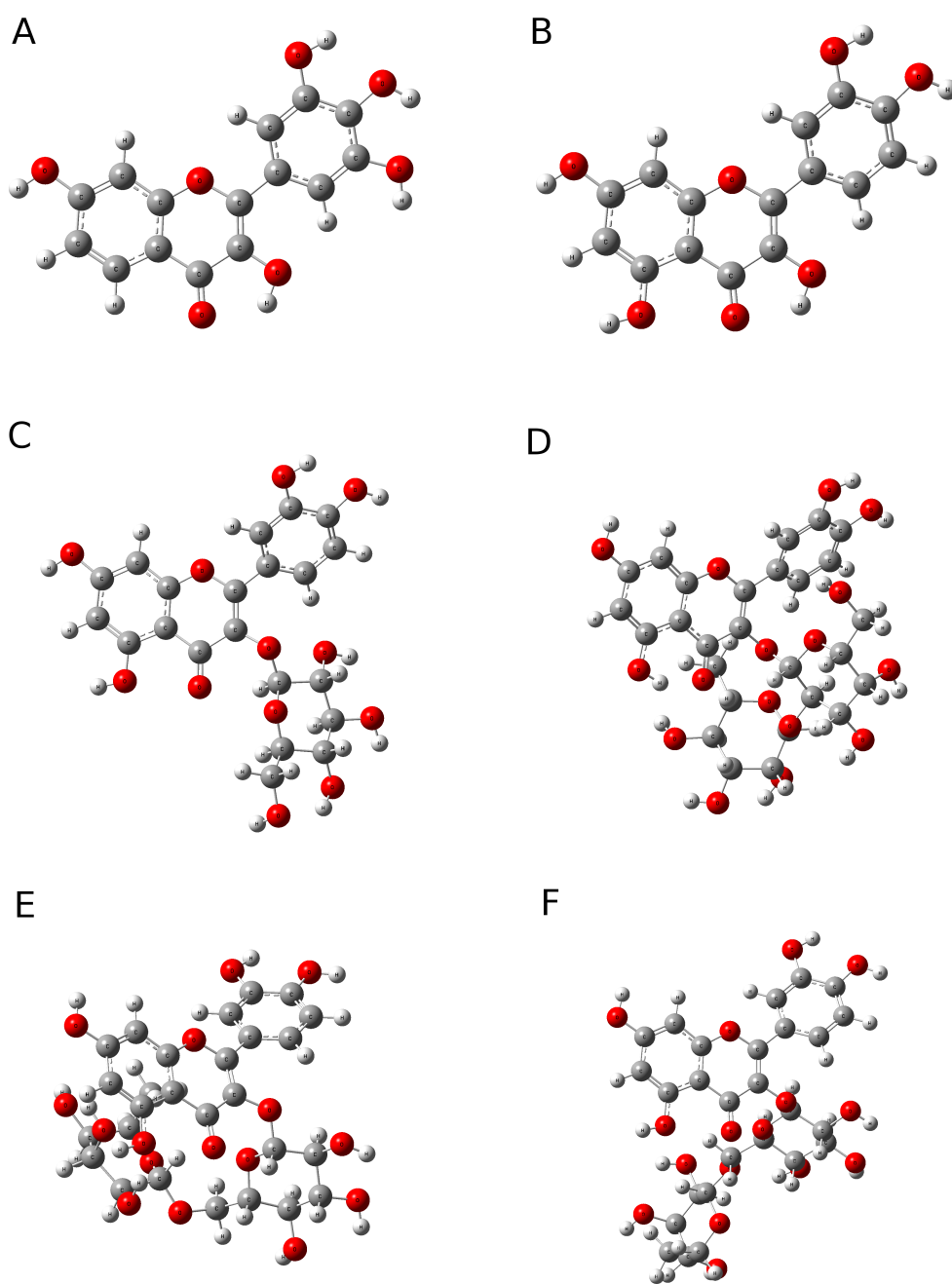
# Estructuras optimizadas



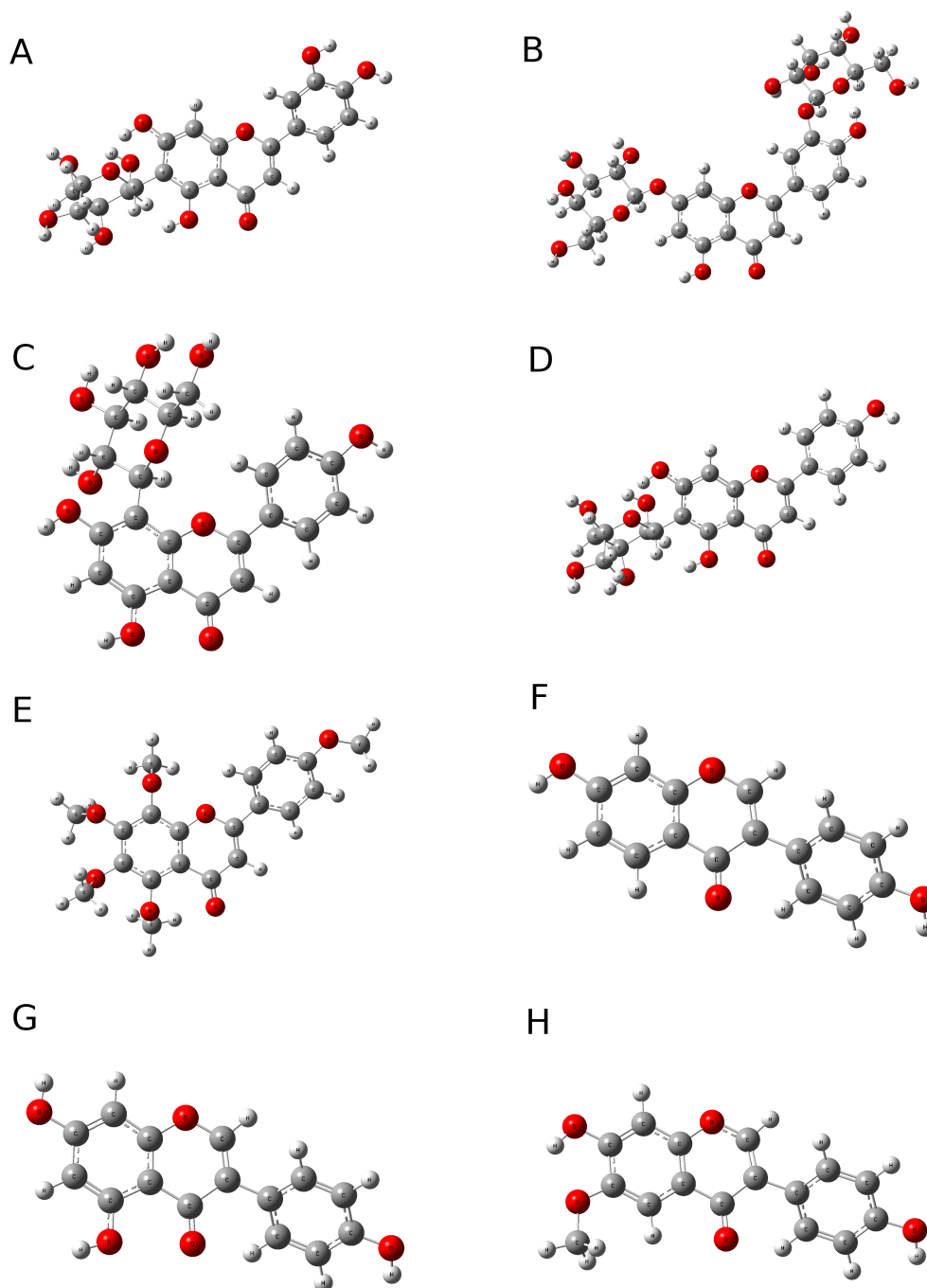
## A.1. Estructuras iniciales en fase gas



**Figura A.1:** Estructuras iniciales optimizadas en fase gas. Flavonoides: A) Catequina. B) Epicatequina. C) Galocatequina. D) Taxifolina E) Kaempferol. F) Nicotiflorina.

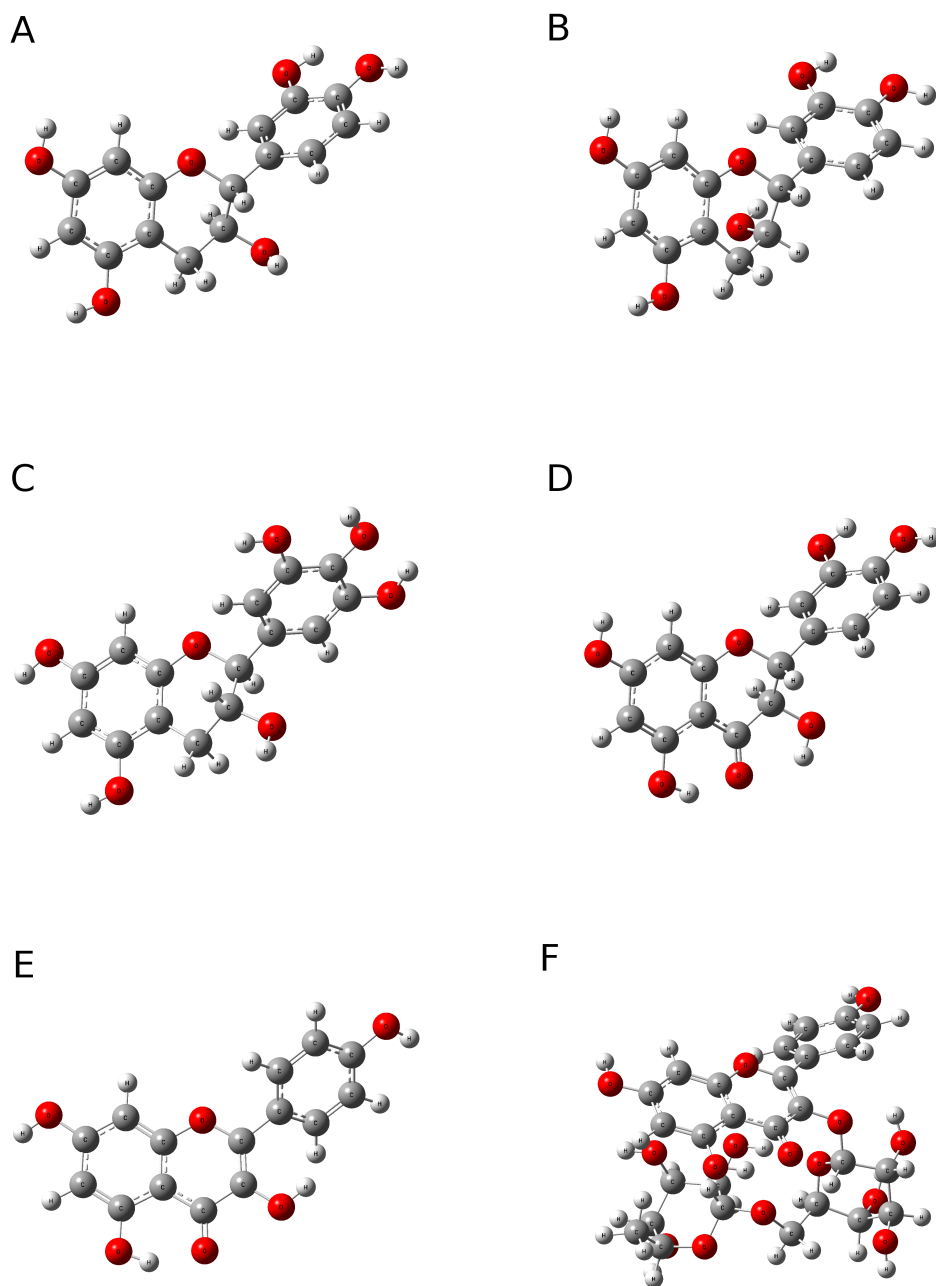


**Figura A.2:** Estructuras iniciales optimizadas en fase gas. Flavonoides: A) Robinetina. B) Quercetina. C) Isoquercetina. D) Quercetina 3-O-neohesperidósido. E) Quercetina 3-O-robinobiosido. F) Rutina.

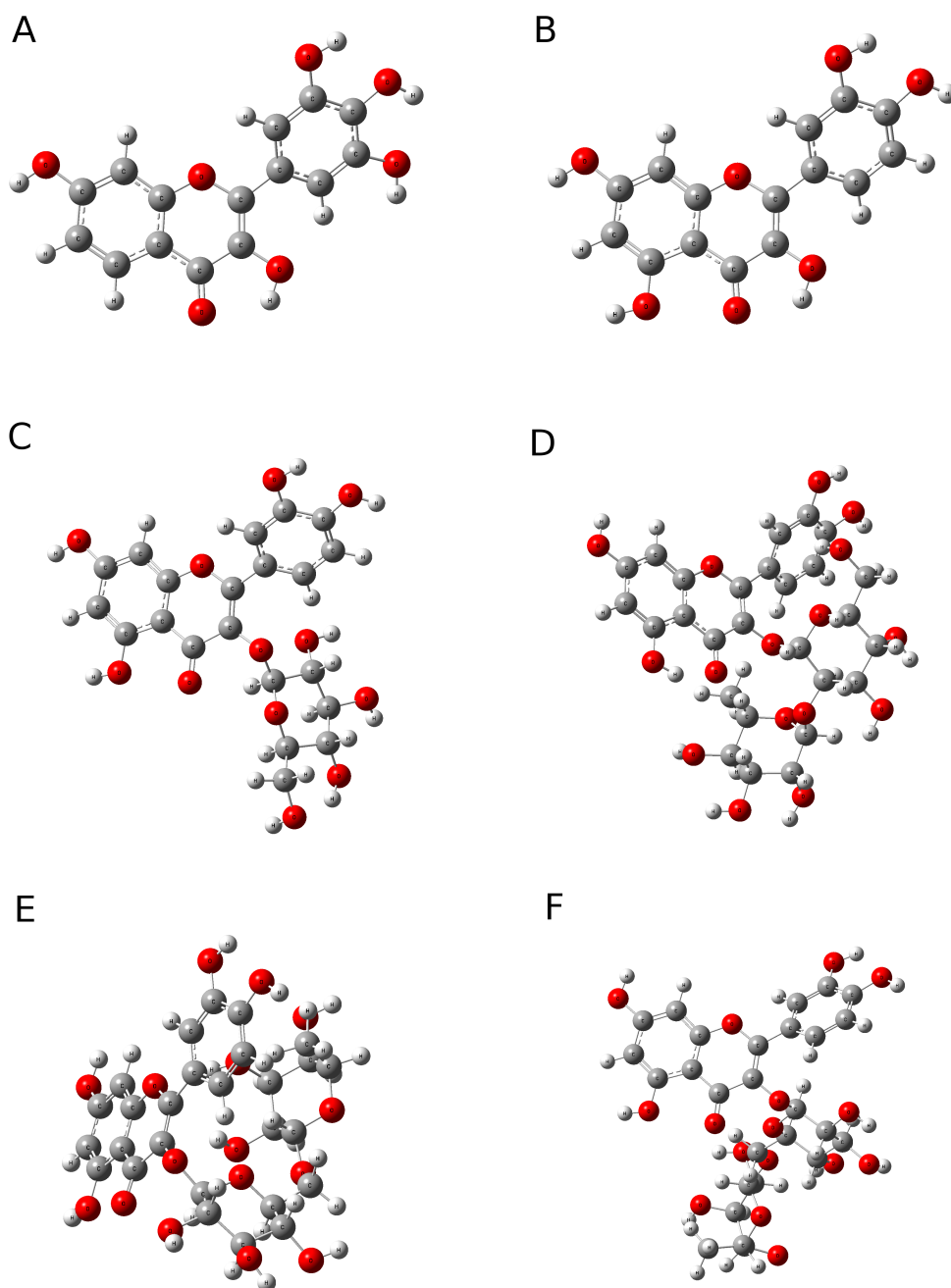


**Figura A.3:** Estructuras iniciales optimizadas en fase gas. Flavonoides: A) Homoorientina. B) Luteolina 7,3'-diglucósido. C) Vitexina. D) Isovitexina. E) Tangeretina. F) Daidzeina. G) Genisteina. H) Gliciteina.

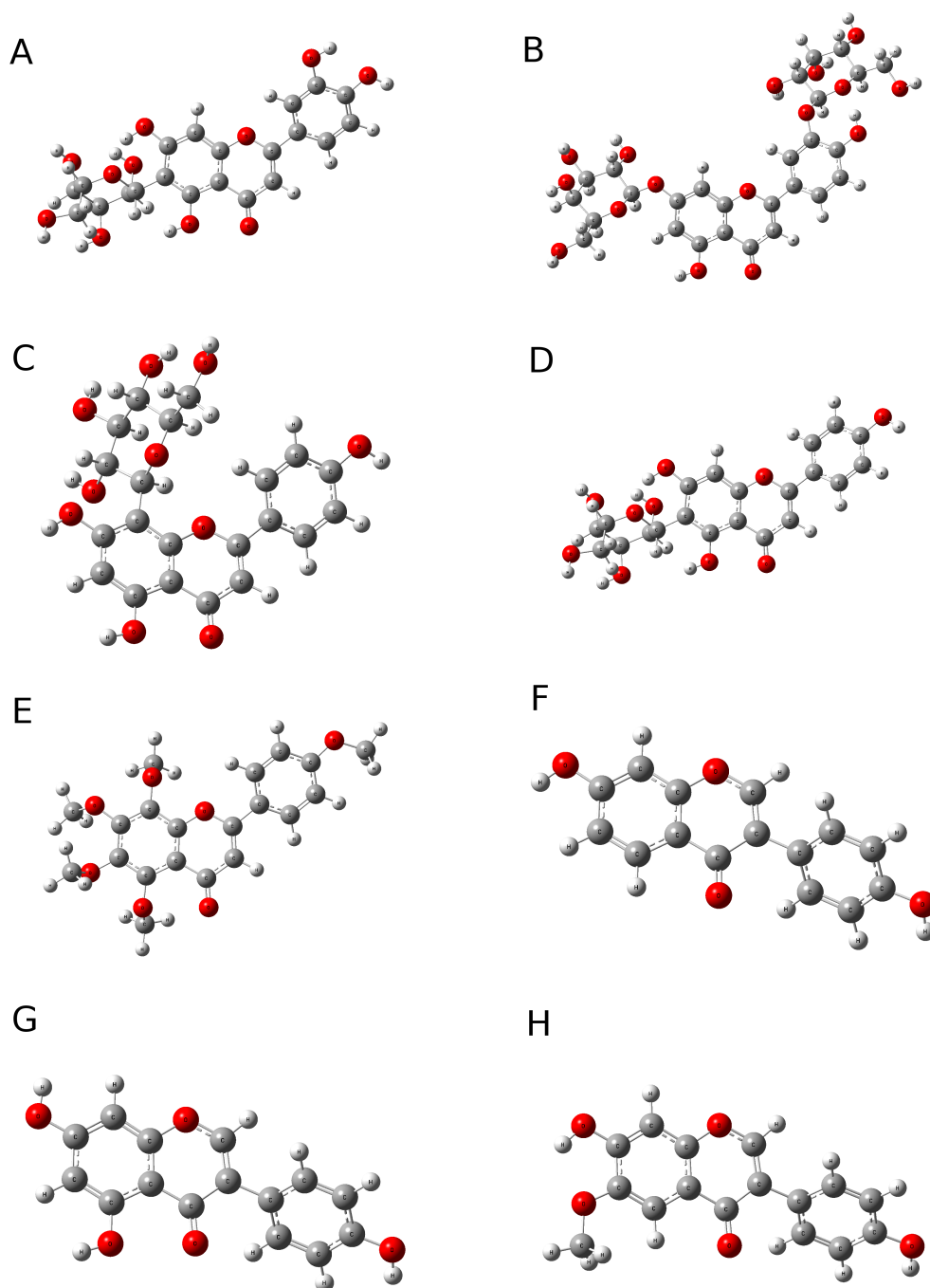
## A.2. Estructuras iniciales en fase acuosa



**Figura A.4:** Estructuras iniciales optimizadas en fase acuosa. Flavonoides: A) Catequina. B) Epicatequina. C) Galocatequina. D) Taxifolina E) Kaempferol. F) Nicotiflorina.



**Figura A.5:** Estructuras iniciales optimizadas en fase acuosa. Flavonoides: A) Robinetina. B) Quercetina. C) Isoquercetina. D) Quercetina 3-O-neohesperidósido. E) Quercetina 3-O-robinobiósido. F) Rutina.

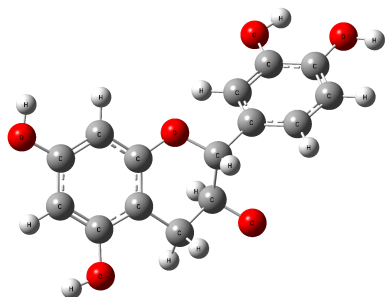


**Figura A.6:** Estructuras iniciales optimizadas en fase acuosa. Flavonoides: A) Homorientina. B) Luteolina 7,3'-diglucósido. C) Vitexina. D) Isovitexina. E) Tangeretina. F) Daidzeina. G) Genisteina. H) Gliciteina.

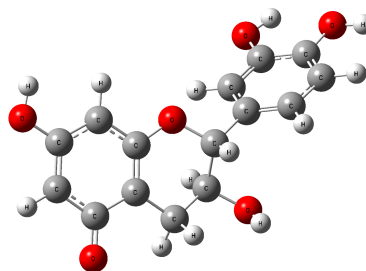
### A.3. Estructuras radicalarias neutras en fase gas

- Catequina

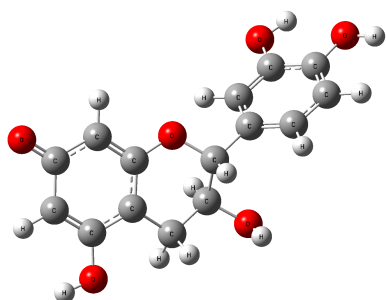
3-O<sup>•</sup>



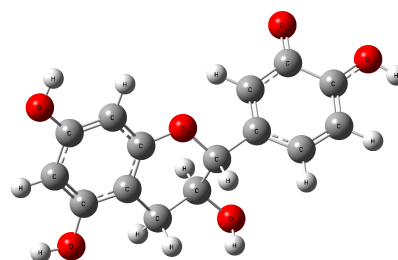
5-O<sup>•</sup>



7-O<sup>•</sup>



3'-O<sup>•</sup>



4'-O<sup>•</sup>

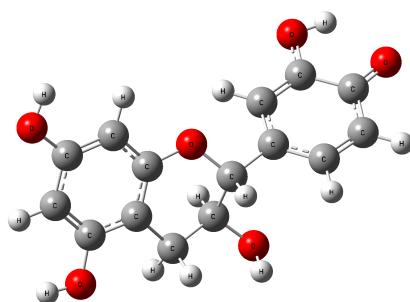
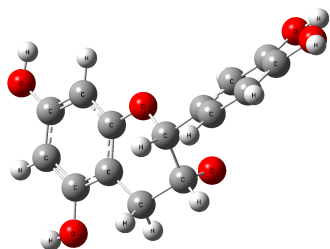


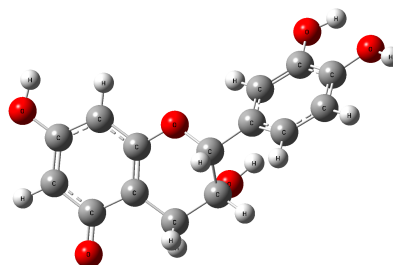
Figura A.7: Estructuras radicalarias neutras de catequina optimizadas en fase gas

- Epicatequina

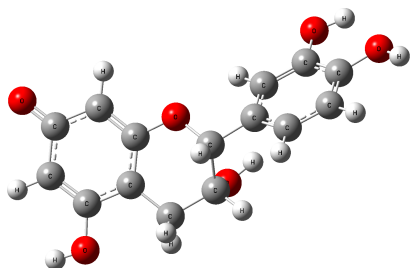
3-O<sup>•</sup>



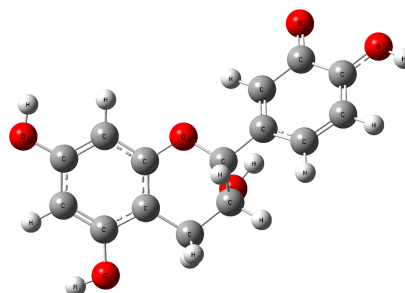
5-O<sup>•</sup>



7-O<sup>•</sup>



3'-O<sup>•</sup>



4'-O<sup>•</sup>

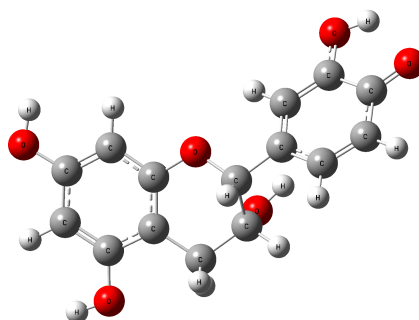
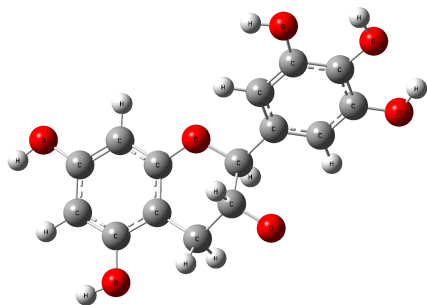


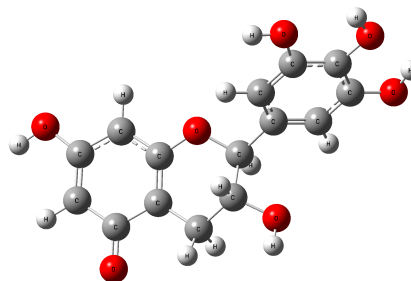
Figura A.8: Estructuras radicalarias neutras de epicatequina optimizadas en fase gas

- Galocatequina

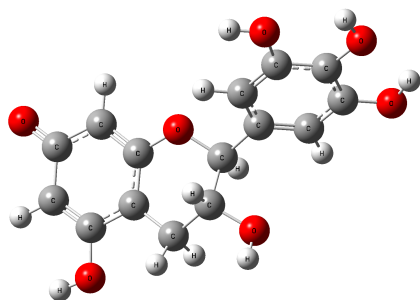
3-O<sup>•</sup>



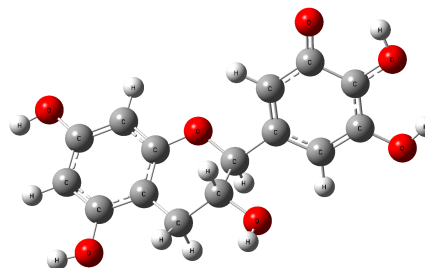
5-O<sup>•</sup>



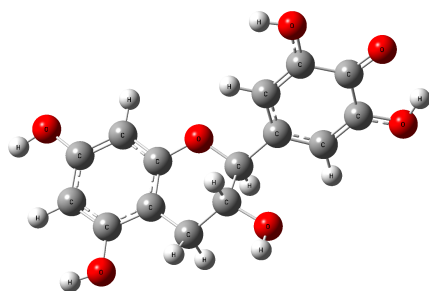
7-O<sup>•</sup>



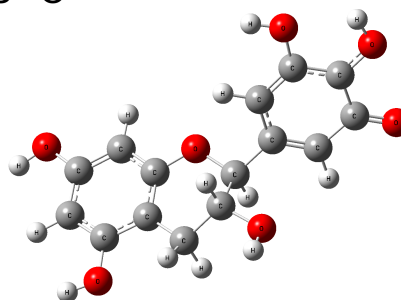
3'-O<sup>•</sup>



4'-O<sup>•</sup>



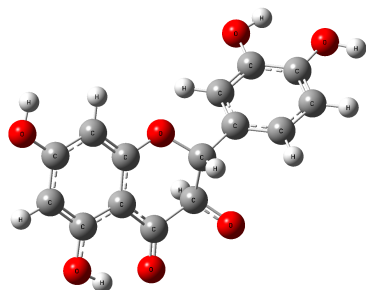
5'-O<sup>•</sup>



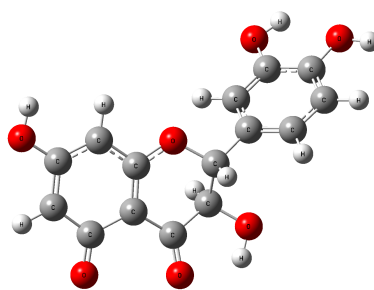
**Figura A.9:** Estructuras radicalarias neutras de galocatequina optimizadas en fase gas

• Taxifolina

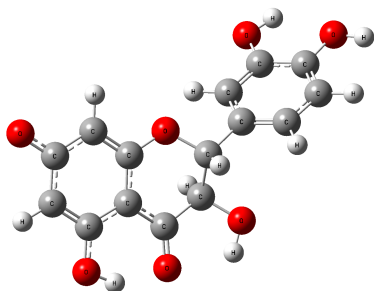
3-O<sup>•</sup>



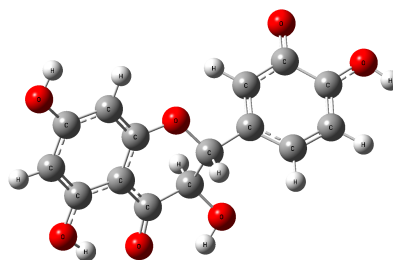
5-O<sup>•</sup>



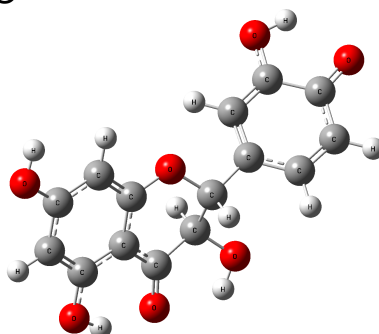
7-O<sup>•</sup>



3'-O<sup>•</sup>



4'-O<sup>•</sup>



**Figura A.10:** Estructuras radicalarias neutras de taxifolina optimizadas en fase gas

- Kaempferol

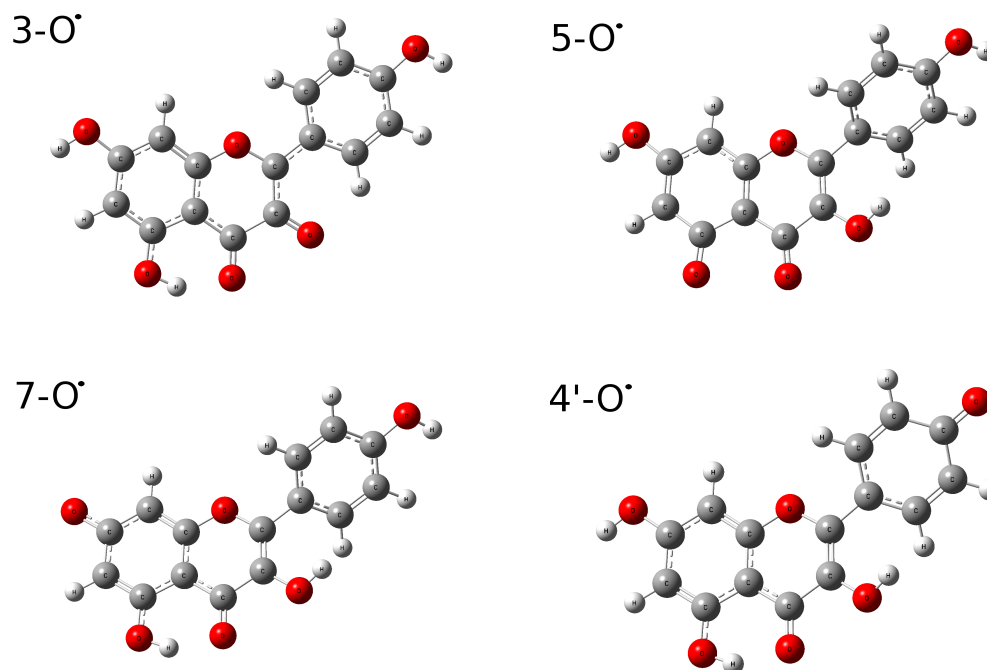
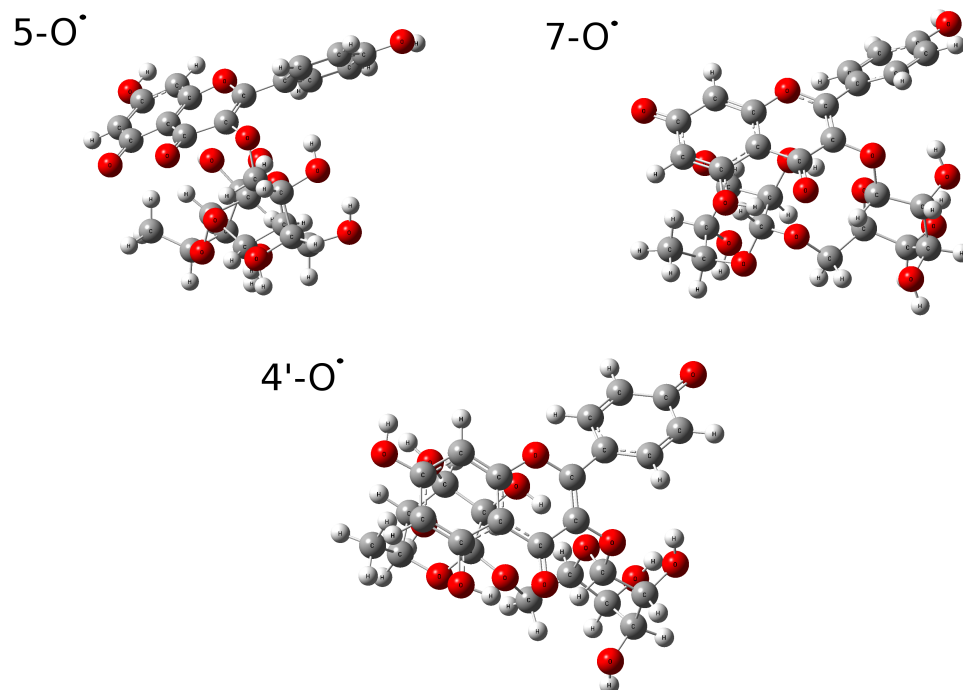


Figura A.11: Estructuras radicalarias neutras de kaempferol optimizadas en fase gas



• Nicotiflorina

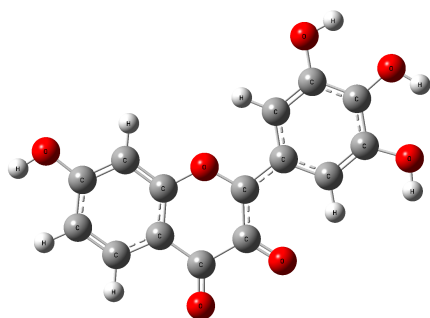


**Figura A.12:** Estructuras radicalarias neutras de nicotiflorina optimizadas en fase gas

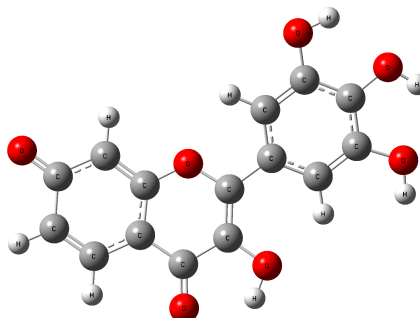


• Robinetina

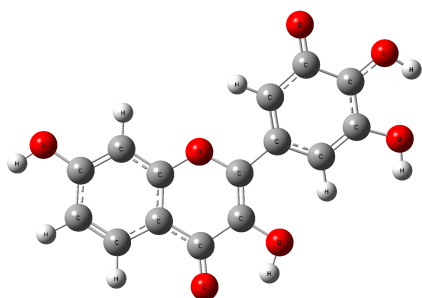
3-O<sup>•</sup>



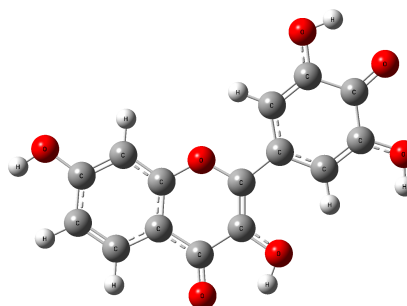
5-O<sup>•</sup>



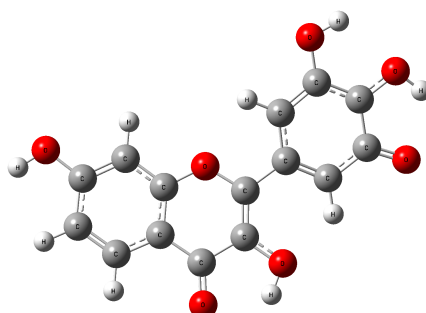
7-O<sup>•</sup>



3'-O<sup>•</sup>



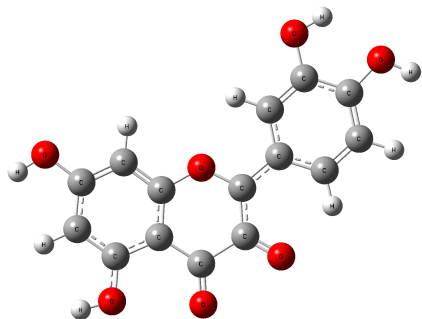
4'-O<sup>•</sup>



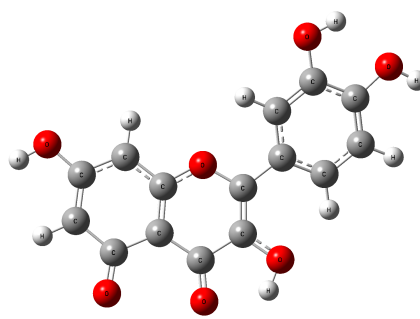
**Figura A.13:** Estructuras radicalarias neutras de robinetina optimizadas en fase gas

- Quercetina

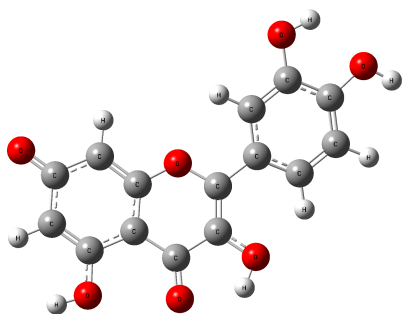
3-O<sup>•</sup>



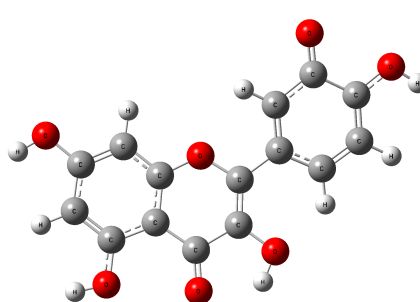
5-O<sup>•</sup>



7-O<sup>•</sup>



3'-O<sup>•</sup>



4'-O<sup>•</sup>

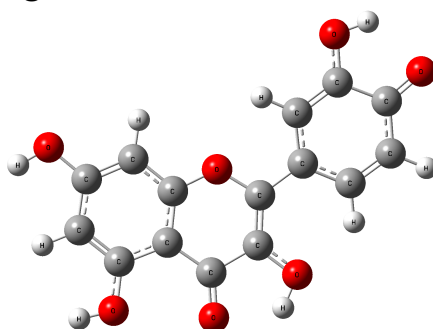
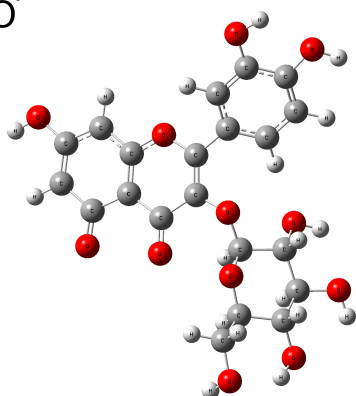


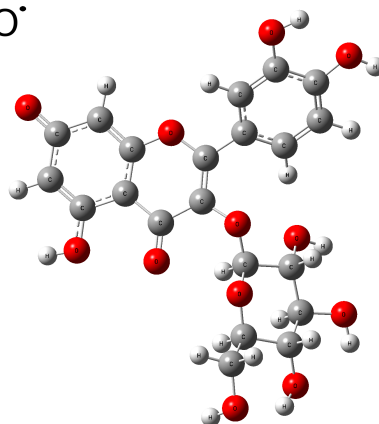
Figura A.14: Estructuras radicalarias neutras de quercetina optimizadas en fase gas

• Isoquercetina

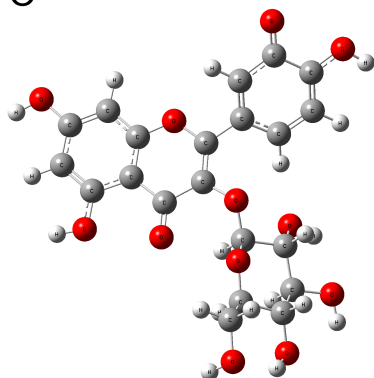
5-O<sup>•</sup>



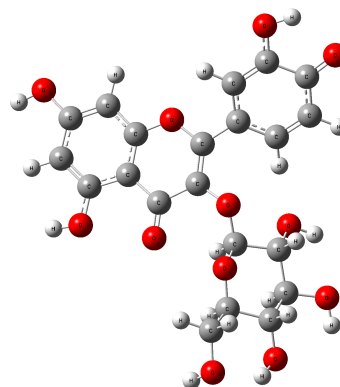
7-O<sup>•</sup>



3'-O<sup>•</sup>



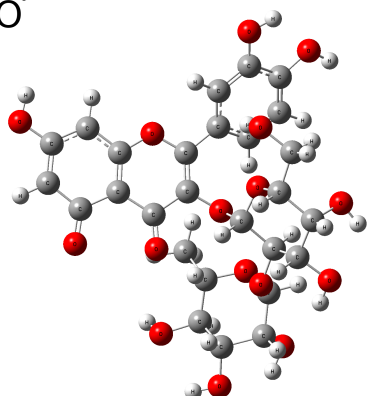
4'-O<sup>•</sup>



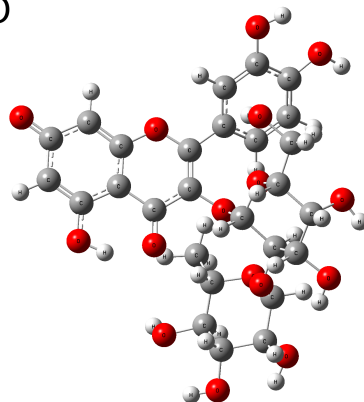
**Figura A.15:** Estructuras radicalarias neutras de isoquercetina optimizadas en fase gas

- Quercetina 3-O-neohesperidósido

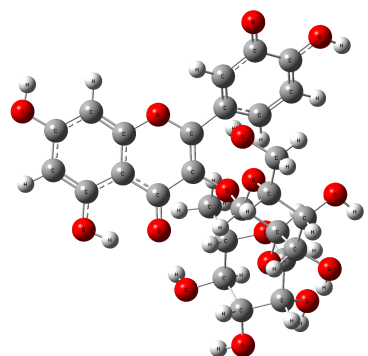
5-O<sup>•</sup>



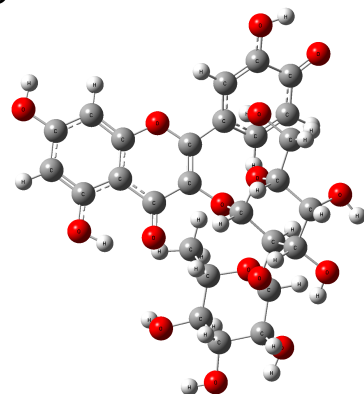
7-O<sup>•</sup>



3'-O<sup>•</sup>



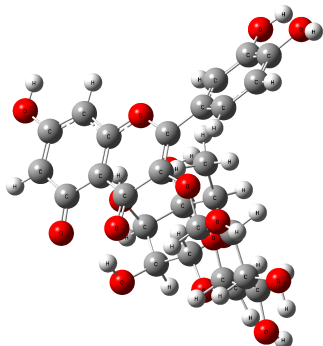
4'-O<sup>•</sup>



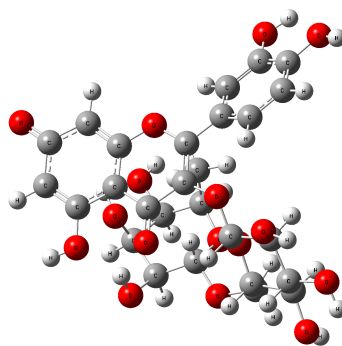
**Figura A.16:** Estructuras radicalarias neutras de quercetina 3-O-neohesperidósido optimizadas en fase gas

- Quercetina 3-O-robinobiósido

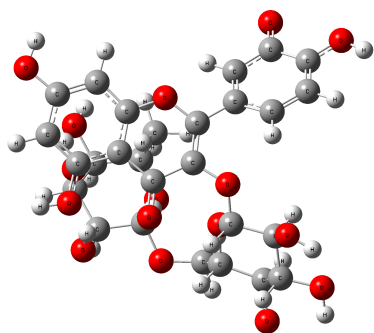
5-O<sup>•</sup>



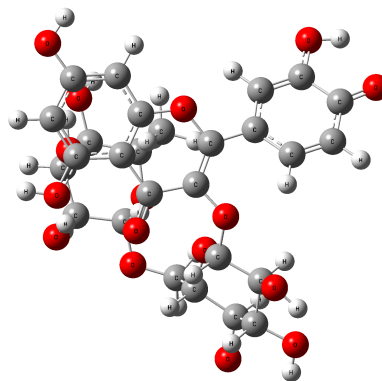
7-O<sup>•</sup>



3'-O<sup>•</sup>



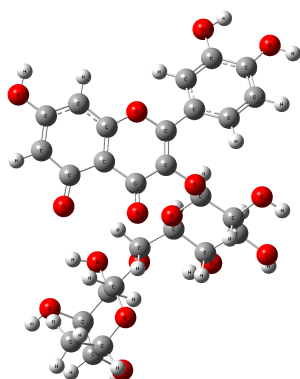
4'-O<sup>•</sup>



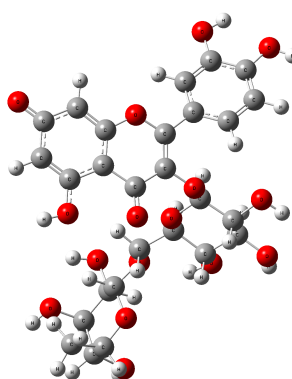
**Figura A.17:** Estructuras radicalarias neutras de quercetina 3-O-robinobiósido optimizadas en fase gas

• Rutina

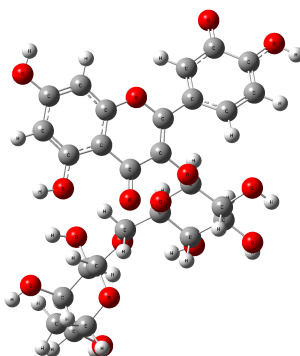
5-O<sup>•</sup>



7-O<sup>•</sup>



3'-O<sup>•</sup>



4'-O<sup>•</sup>

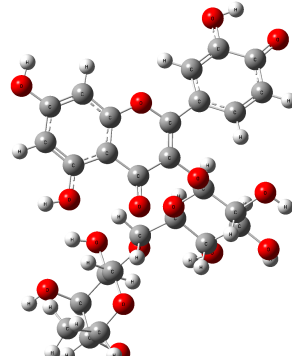
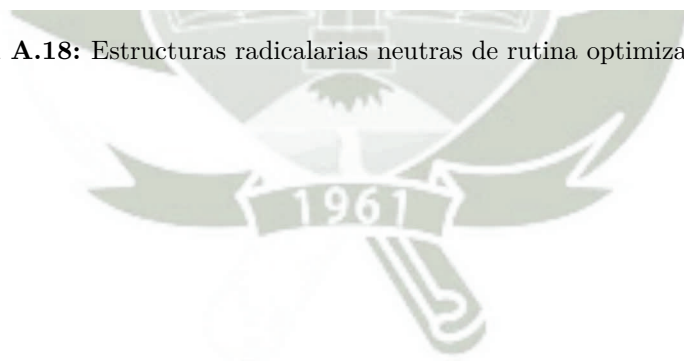
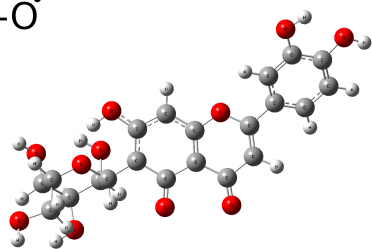


Figura A.18: Estructuras radicalarias neutras de rutina optimizadas en fase gas

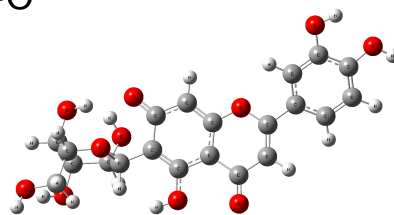


- Homoorientina

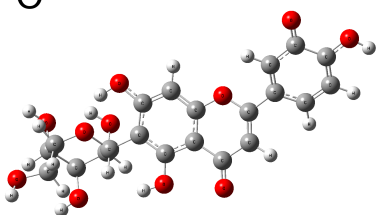
5-O<sup>•</sup>



7-O<sup>•</sup>



3'-O<sup>•</sup>



4'-O<sup>•</sup>

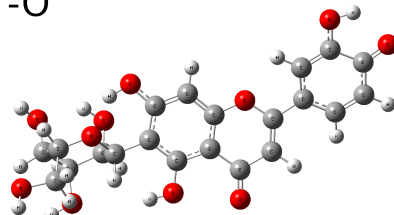
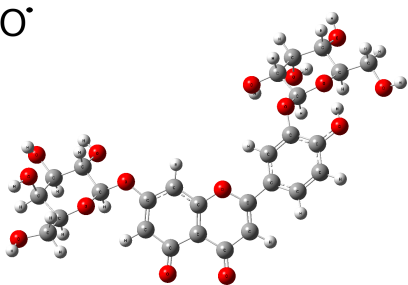


Figura A.19: Estructuras radicalarias neutras de homoorientina optimizadas en fase gas

- Luteolina 7,3'-diglucósido

5-O<sup>•</sup>



4'-O<sup>•</sup>

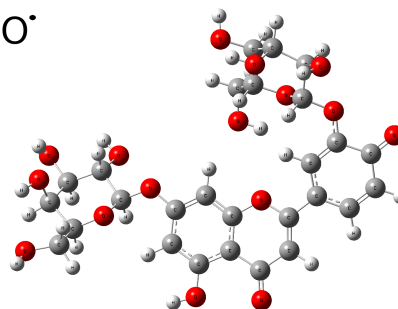
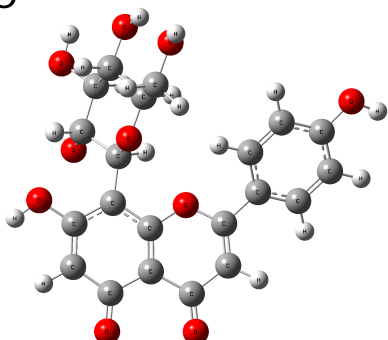


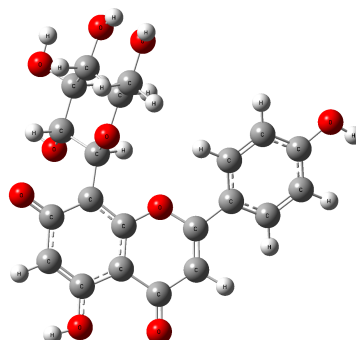
Figura A.20: Estructuras radicalarias neutras de luteolina 7,3'-diglucósido optimizadas en fase gas

• Vitexina

5-O<sup>•</sup>



7-O<sup>•</sup>



4'-O<sup>•</sup>

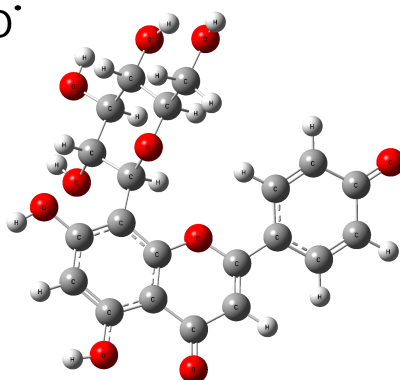


Figura A.21: Estructuras radicalarias neutras de vitexina optimizadas en fase gas

- Isovitexina

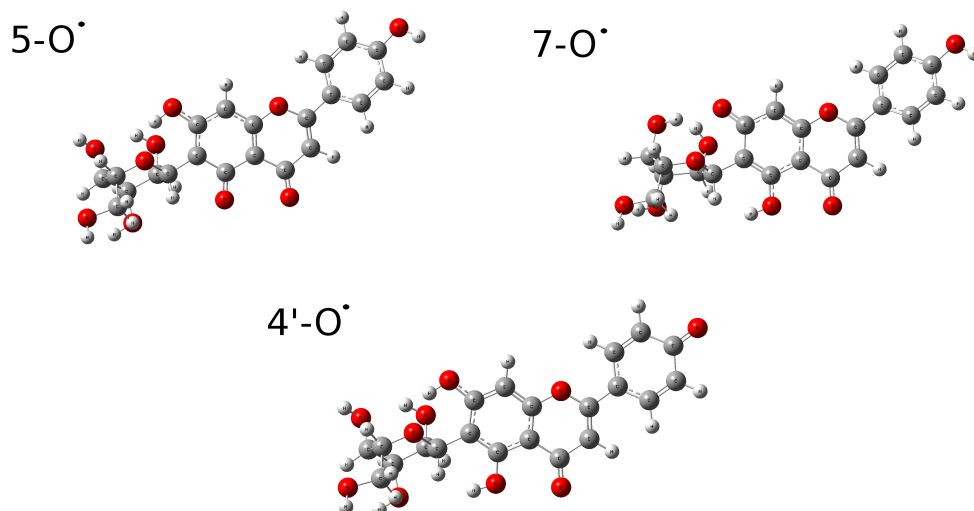


Figura A.22: Estructuras radicalarias neutras de isovitexina optimizadas en fase gas

- Daidzeina

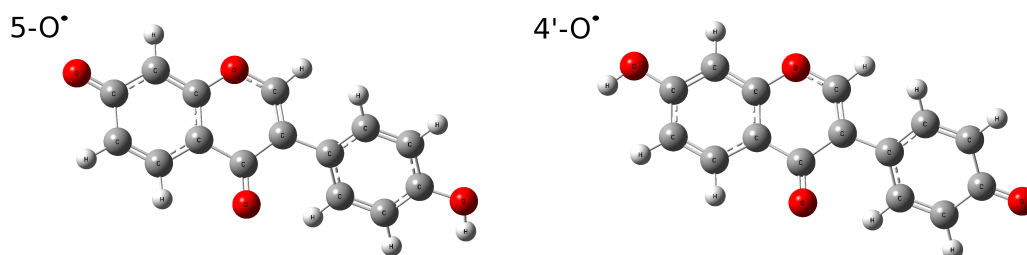


Figura A.23: Estructuras radicalarias neutras de daidzeina optimizadas en fase gas

- Genisteina

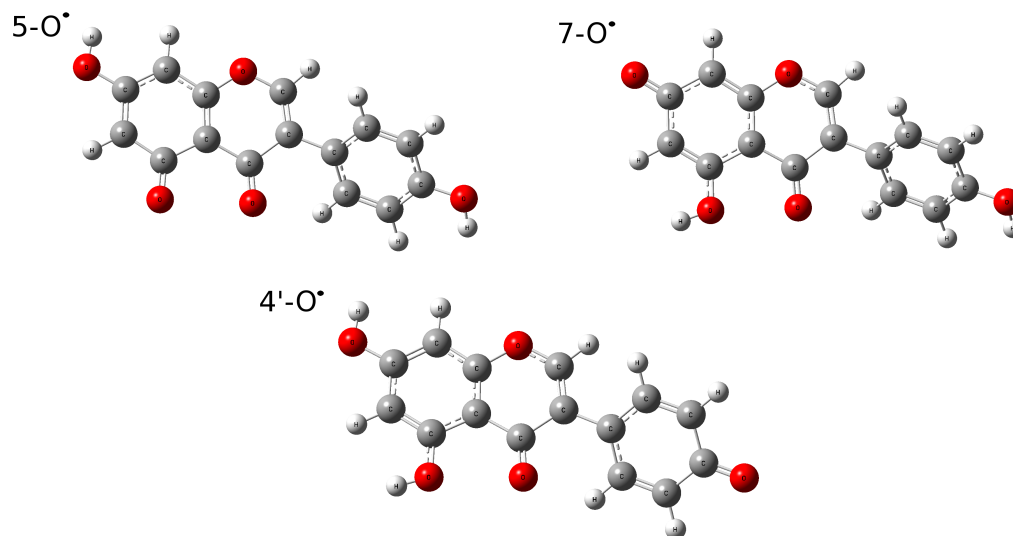


Figura A.24: Estructuras radicalarias neutras de genisteina optimizadas en fase gas

- Gliciteina

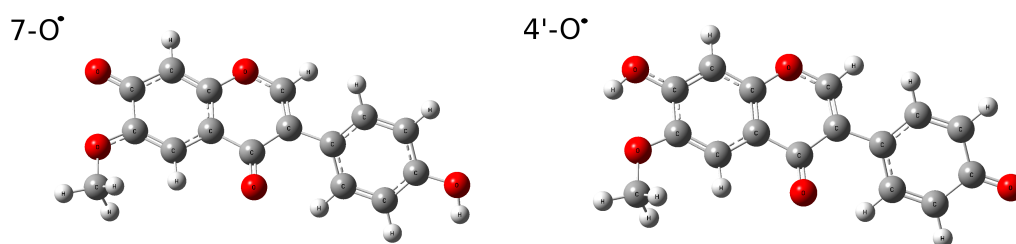
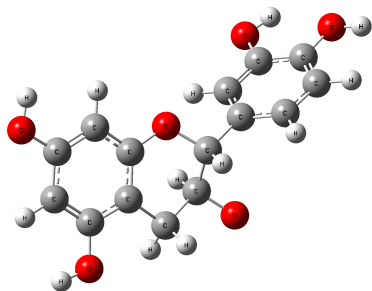


Figura A.25: Estructuras radicalarias neutras de gliciteina optimizadas en fase gas

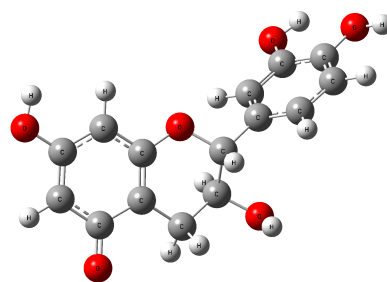
## A.4. Estructuras radicalarias neutras en fase acuosa

- Catequina

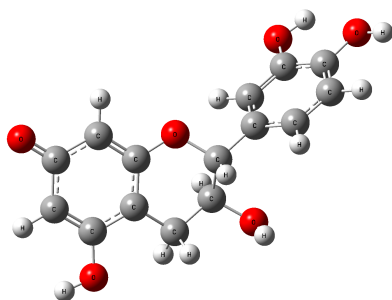
3-O<sup>•</sup>



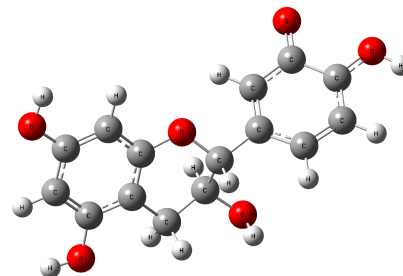
5-O<sup>•</sup>



7-O<sup>•</sup>



3'-O<sup>•</sup>



4'-O<sup>•</sup>

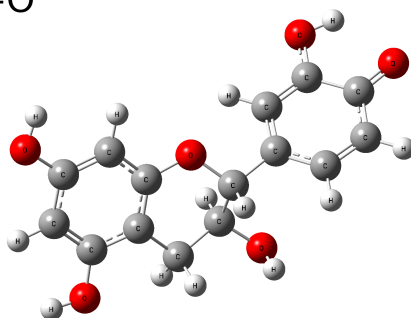
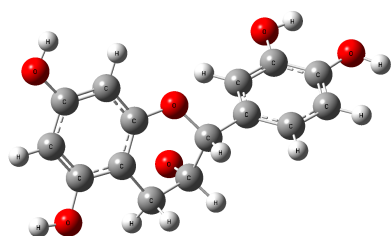


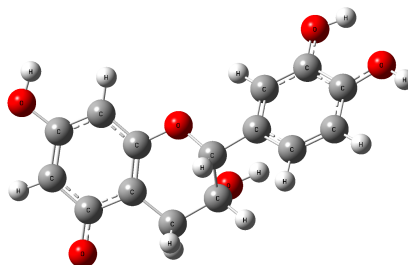
Figura A.26: Estructuras radicalarias neutras de catequina optimizadas en fase acuosa

- Epicatequina

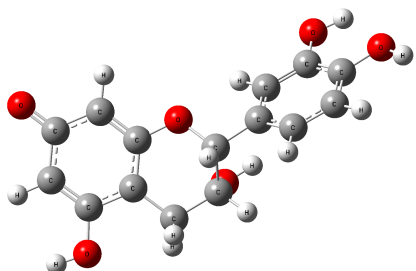
3-O<sup>•</sup>



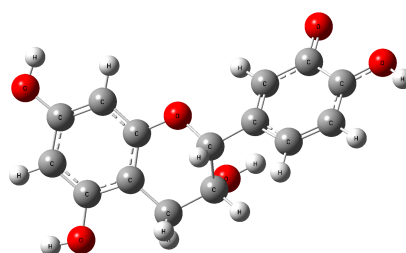
5-O<sup>•</sup>



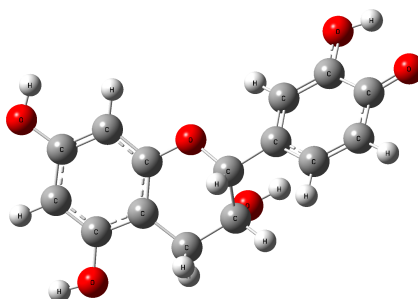
7-O<sup>•</sup>



3'-O<sup>•</sup>



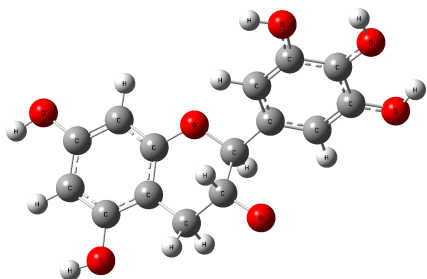
4'-O<sup>•</sup>



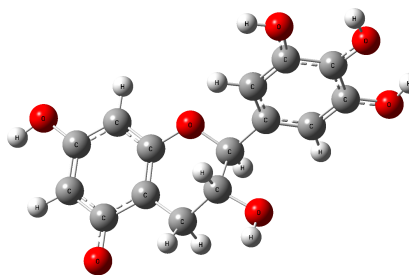
**Figura A.27:** Estructuras radicalarias neutras de epicatequina optimizadas en fase acuosa.

• Gallocatequina

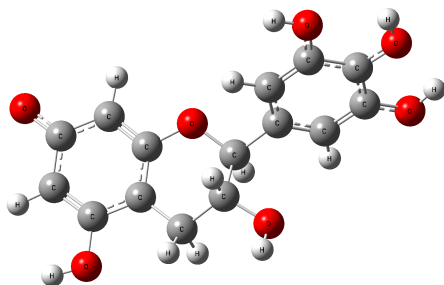
3-O<sup>•</sup>



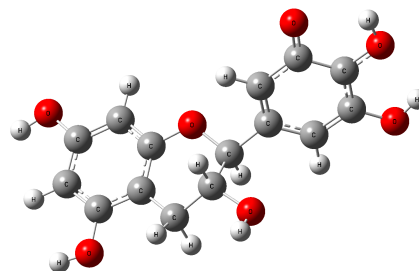
5-O<sup>•</sup>



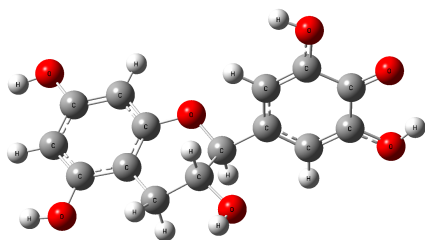
7-O<sup>•</sup>



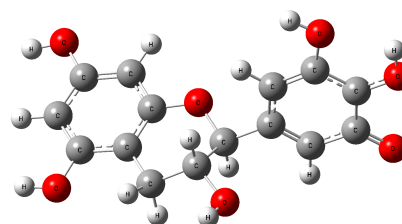
3'-O<sup>•</sup>



4'-O<sup>•</sup>



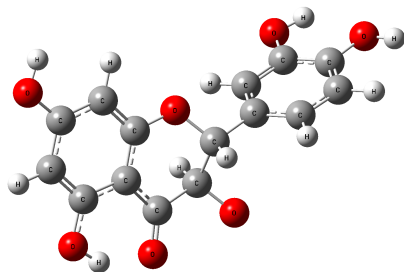
5'-O<sup>•</sup>



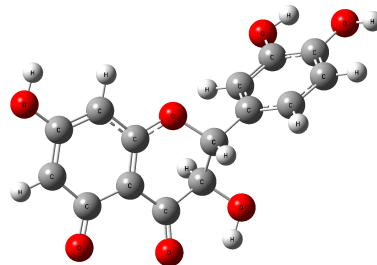
**Figura A.28:** Estructuras radicalarias neutras de gallocatequina optimizadas en fase acuosa

• Taxifolina

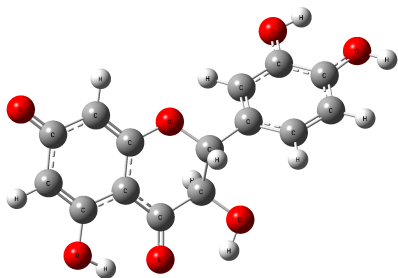
3-O<sup>•</sup>



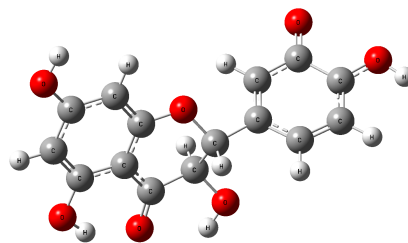
5-O<sup>•</sup>



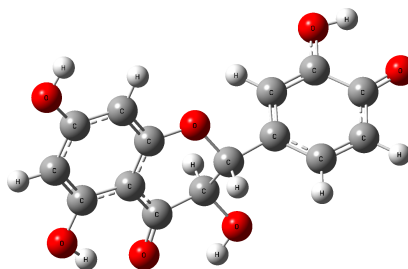
7-O<sup>•</sup>



3'-O<sup>•</sup>



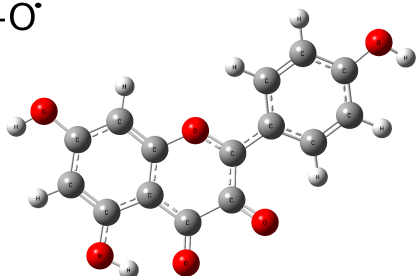
4'-O<sup>•</sup>



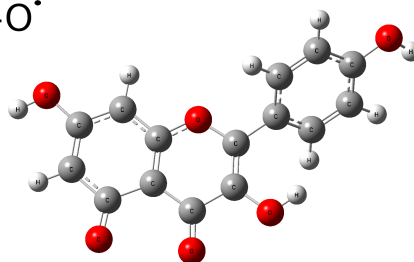
**Figura A.29:** Estructuras radicalarias neutras de taxifolina optimizadas en fase acuosa

• Kaempferol

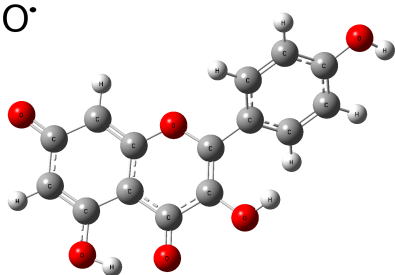
3-O<sup>•</sup>



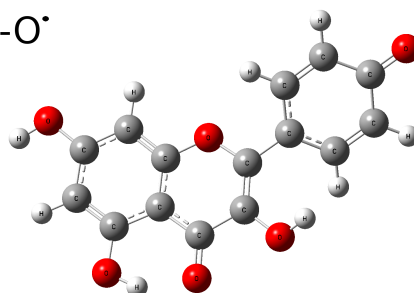
5-O<sup>•</sup>



7-O<sup>•</sup>



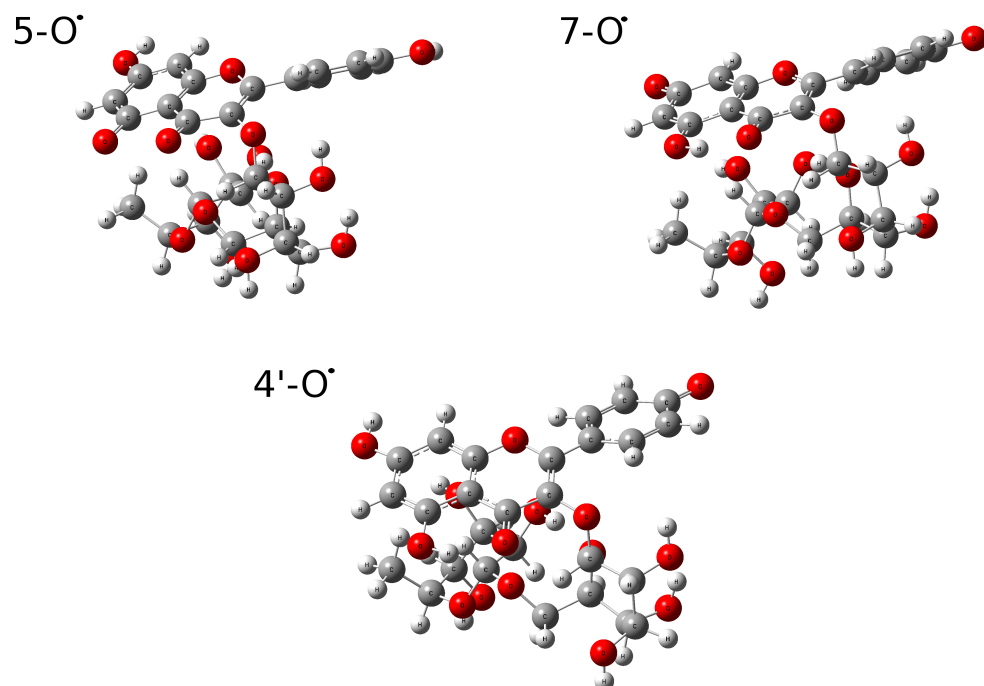
4'-O<sup>•</sup>



**Figura A.30:** Estructuras radicalarias neutras de kaempferol optimizadas en fase acuosa



• Nicotiflorina

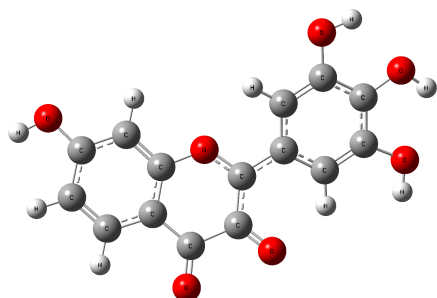


**Figura A.31:** Estructuras radicalarias neutras de nicotiflorina optimizadas en fase acuosa

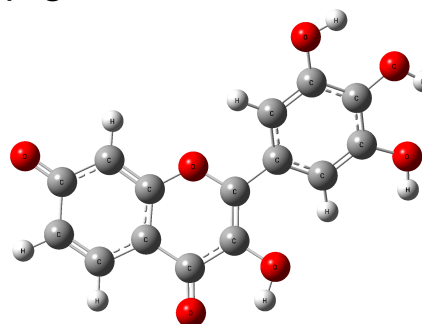


• Robinetina

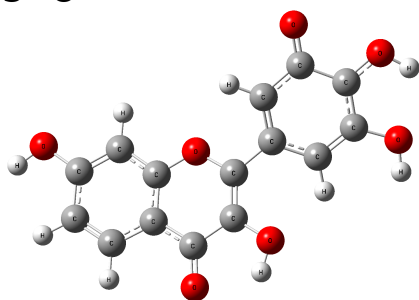
3-O<sup>•</sup>



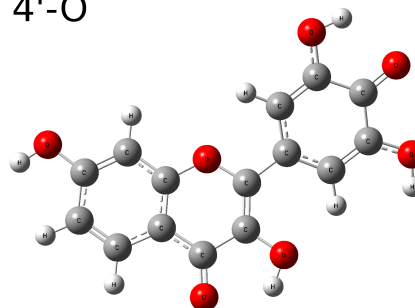
7-O<sup>•</sup>



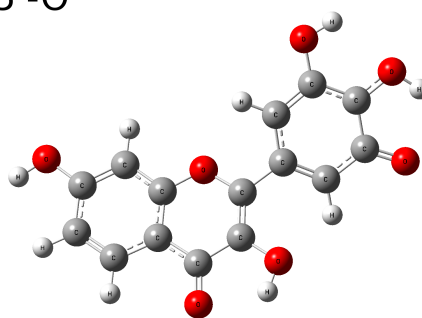
3'-O<sup>•</sup>



4'-O<sup>•</sup>



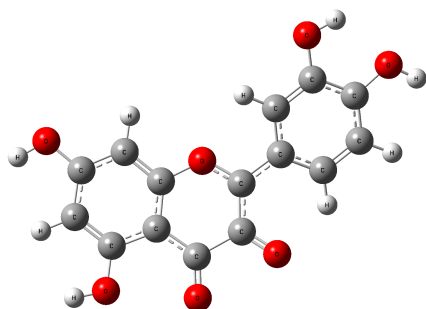
5'-O<sup>•</sup>



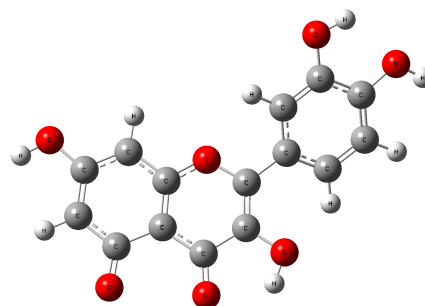
**Figura A.32:** Estructuras radicalarias neutras de robinetina optimizadas en fase acuosa

- Quercetina

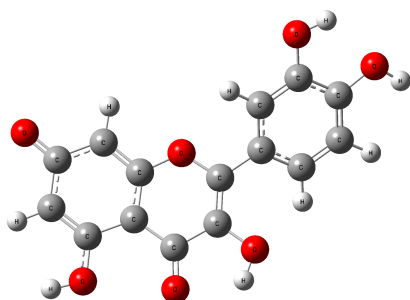
3-O<sup>•</sup>



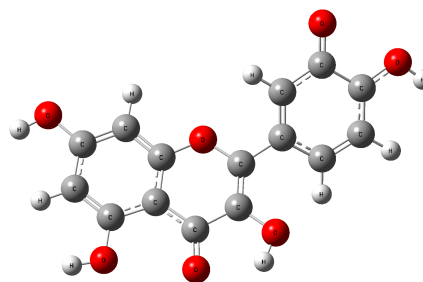
5-O<sup>•</sup>



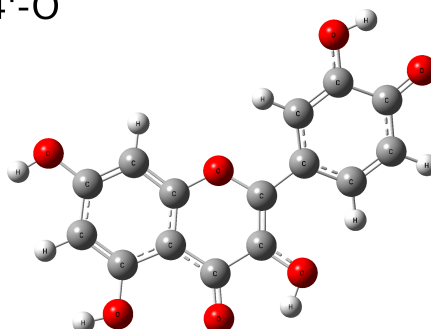
7-O<sup>•</sup>



3'-O<sup>•</sup>



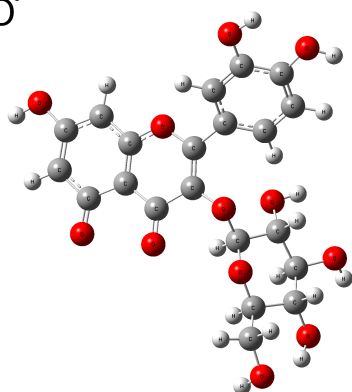
4'-O<sup>•</sup>



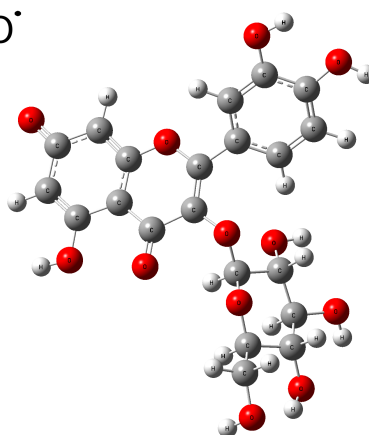
**Figura A.33:** Estructuras radicalarias neutras de quercetina optimizadas en fase acuosa

• Isoquercetina

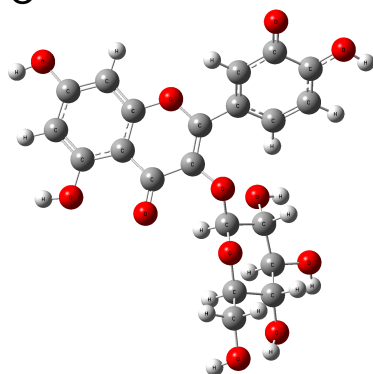
5-O<sup>•</sup>



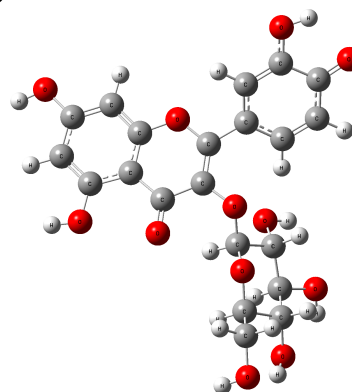
7-O<sup>•</sup>



3'-O<sup>•</sup>



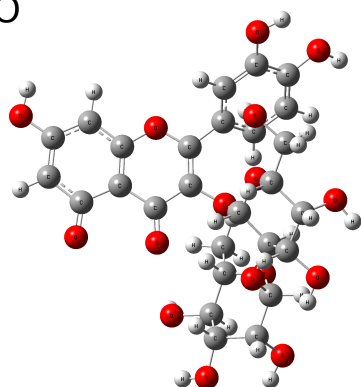
4'-O<sup>•</sup>



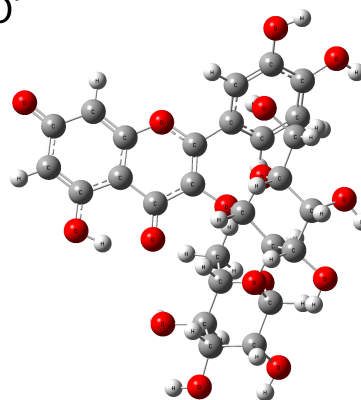
**Figura A.34:** Estructuras radicalarias neutras de isoquercetina optimizadas en fase acuosa

• Quercetina 3-O-neohesperidósido

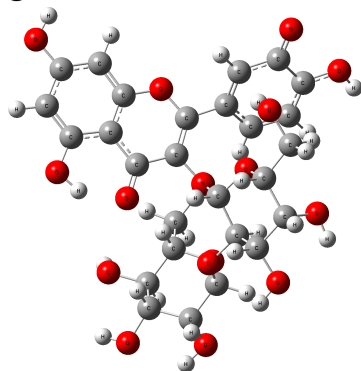
5-O<sup>•</sup>



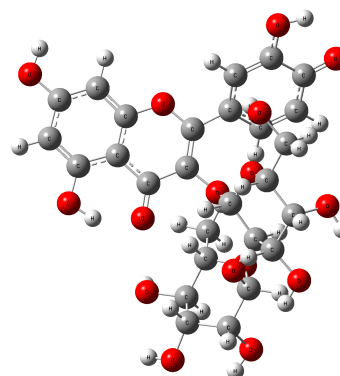
7-O<sup>•</sup>



3'-O<sup>•</sup>



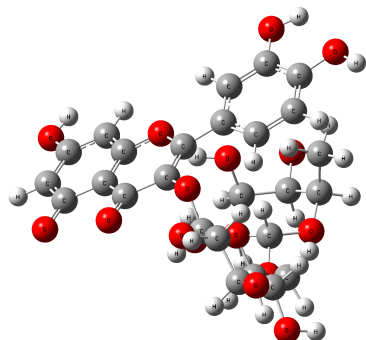
4'-O<sup>•</sup>



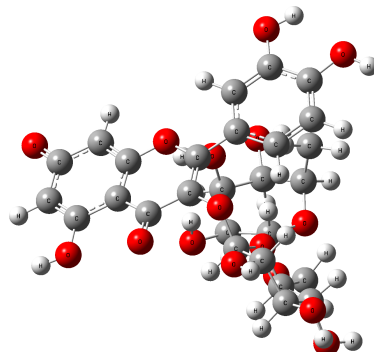
**Figura A.35:** Estructuras radicalarias neutras de quercetina 3-O-neohesperidósido optimizadas en fase acuosa

- Quercetina 3-O-robinobiósido

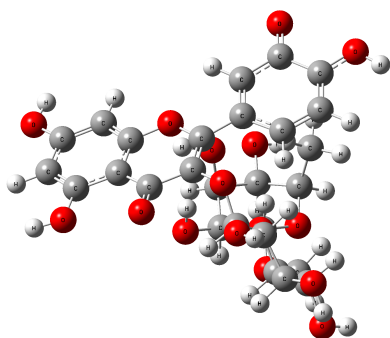
5-O<sup>•</sup>



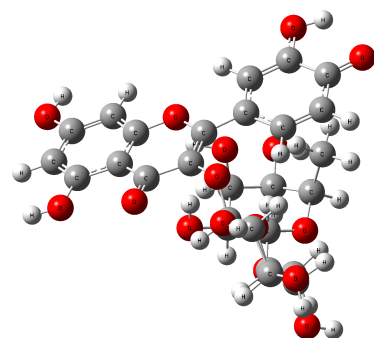
7-O<sup>•</sup>



3'-O<sup>•</sup>



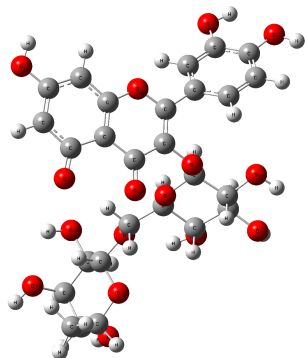
4'-O<sup>•</sup>



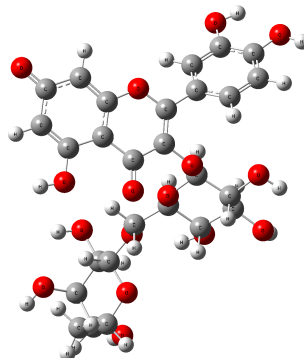
**Figura A.36:** Estructuras radicalarias neutras de quercetina 3-O-robinobiósido optimizadas en fase acuosa

• Rutina

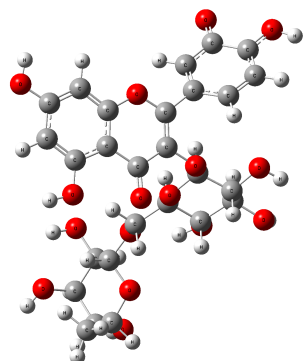
5-O<sup>•</sup>



7-O<sup>•</sup>



3'-O<sup>•</sup>



4'-O<sup>•</sup>

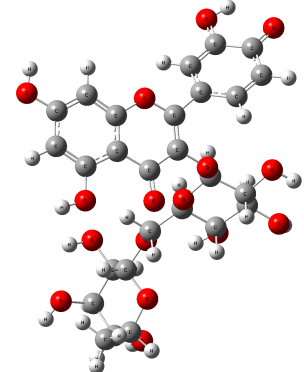
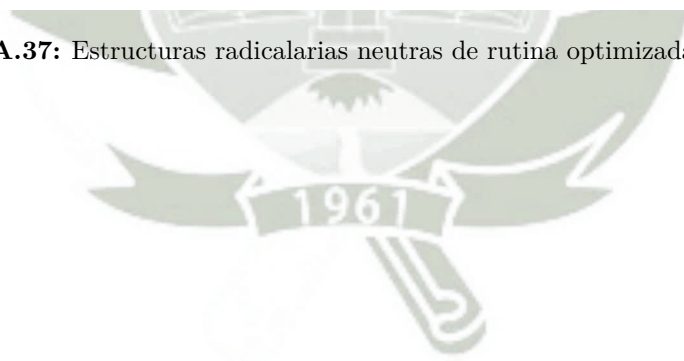
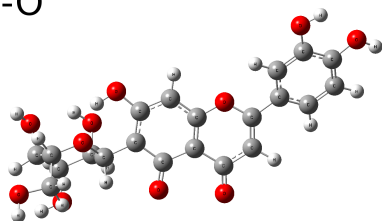


Figura A.37: Estructuras radicalarias neutras de rutina optimizadas en fase acuosa

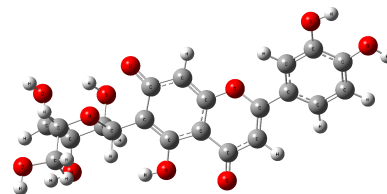


- Homoorientina

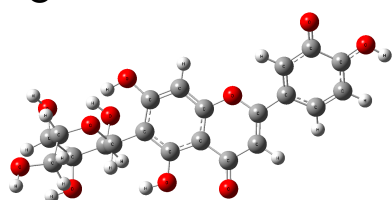
5-O<sup>•</sup>



7-O<sup>•</sup>



3'-O<sup>•</sup>



4'-O<sup>•</sup>

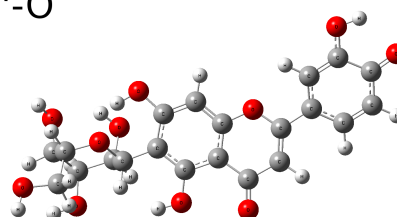
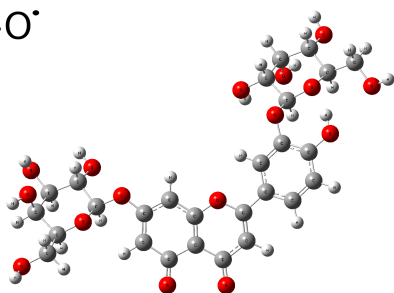


Figura A.38: Estructuras radicalarias neutras de homoorientina optimizadas en fase acuosa

- Luteolina 7,3'-diglucósido

5-O<sup>•</sup>



4'-O<sup>•</sup>

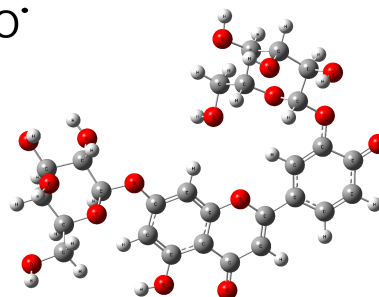
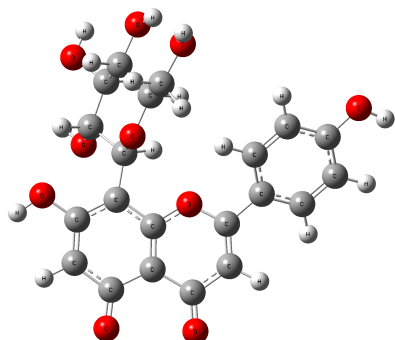


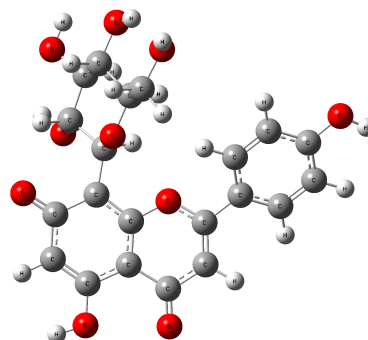
Figura A.39: Estructuras radicalarias neutras de luteolina 7,3'-diglucósido optimizadas en fase acuosa

- Vitexina

5-O<sup>•</sup>



7-O<sup>•</sup>



4'-O<sup>•</sup>

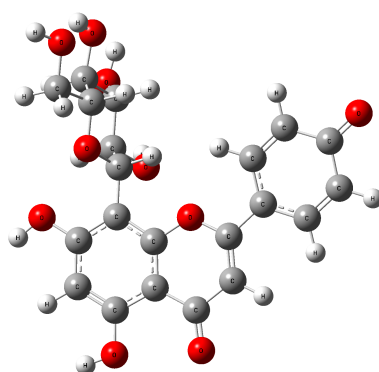
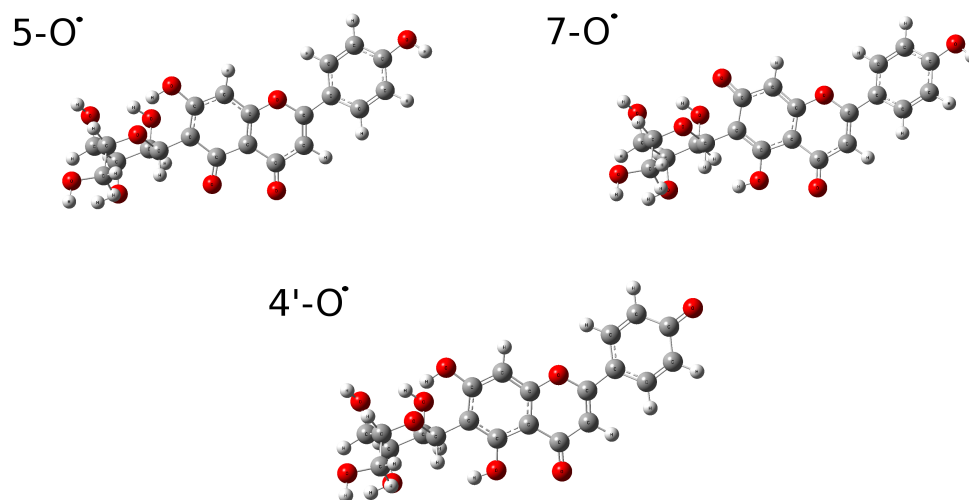


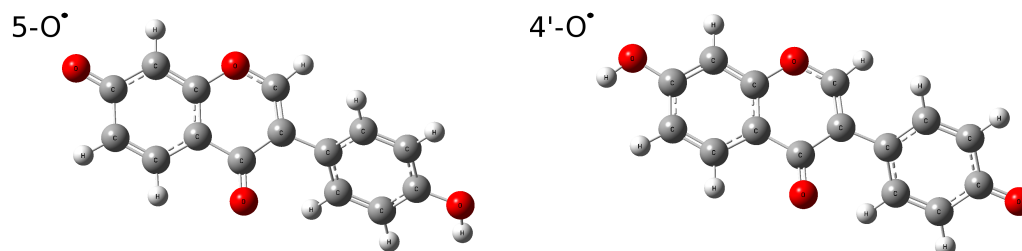
Figura A.40: Estructuras radicalarias neutras de vitexina optimizadas en fase acuosa

- Isovitexina



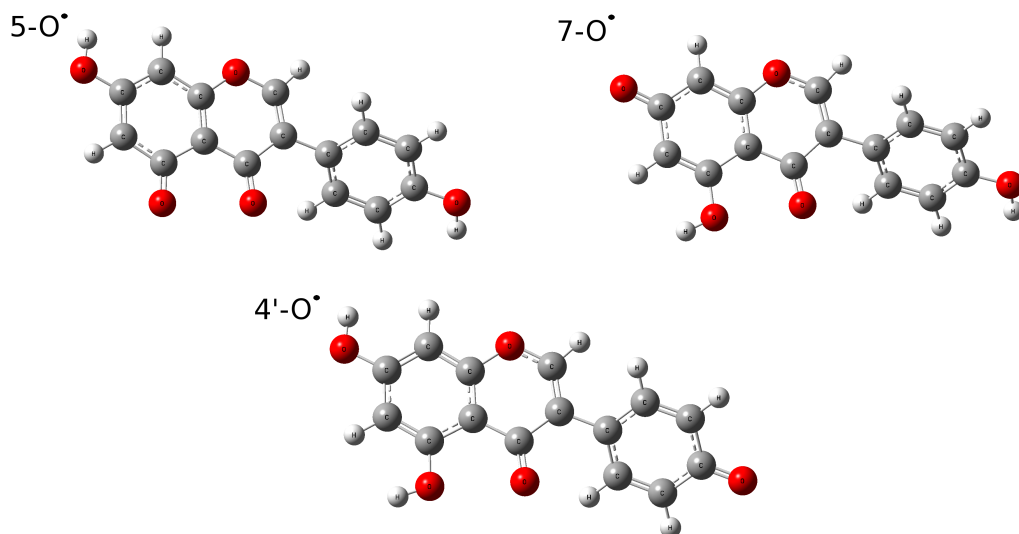
**Figura A.41:** Estructuras radicalarias neutras de isovitexina optimizadas en fase acuosa

- Daidzeina



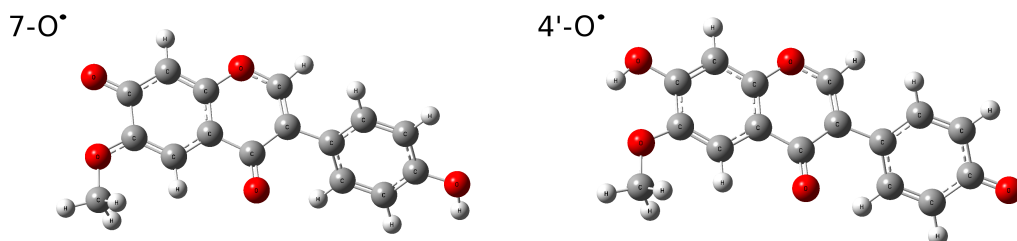
**Figura A.42:** Estructuras radicalarias neutras de daidzeina optimizadas en fase acuosa

- Genisteina



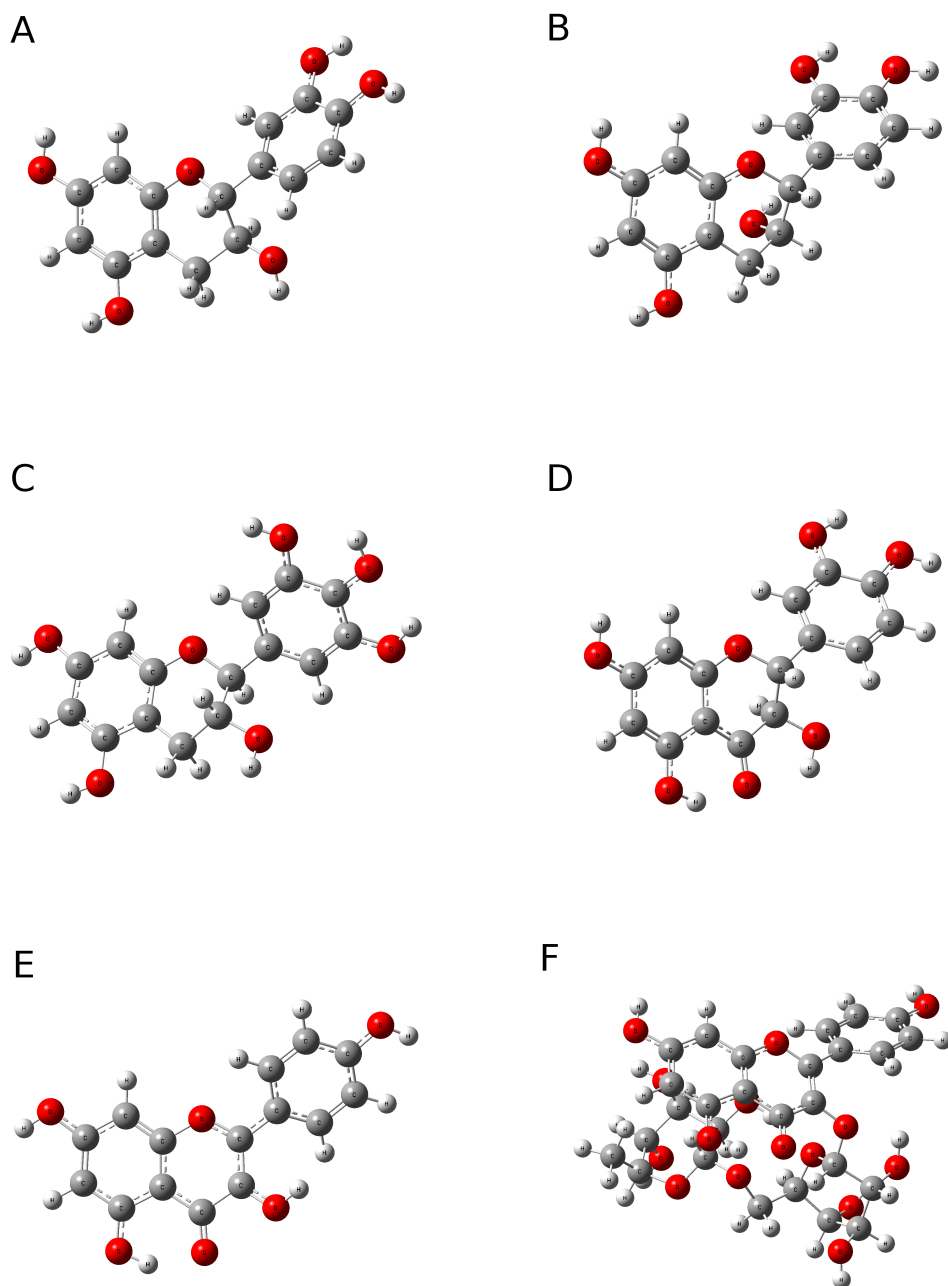
**Figura A.43:** Estructuras radicalarias neutras de genisteina optimizadas en fase acuosa

- Gliciteina

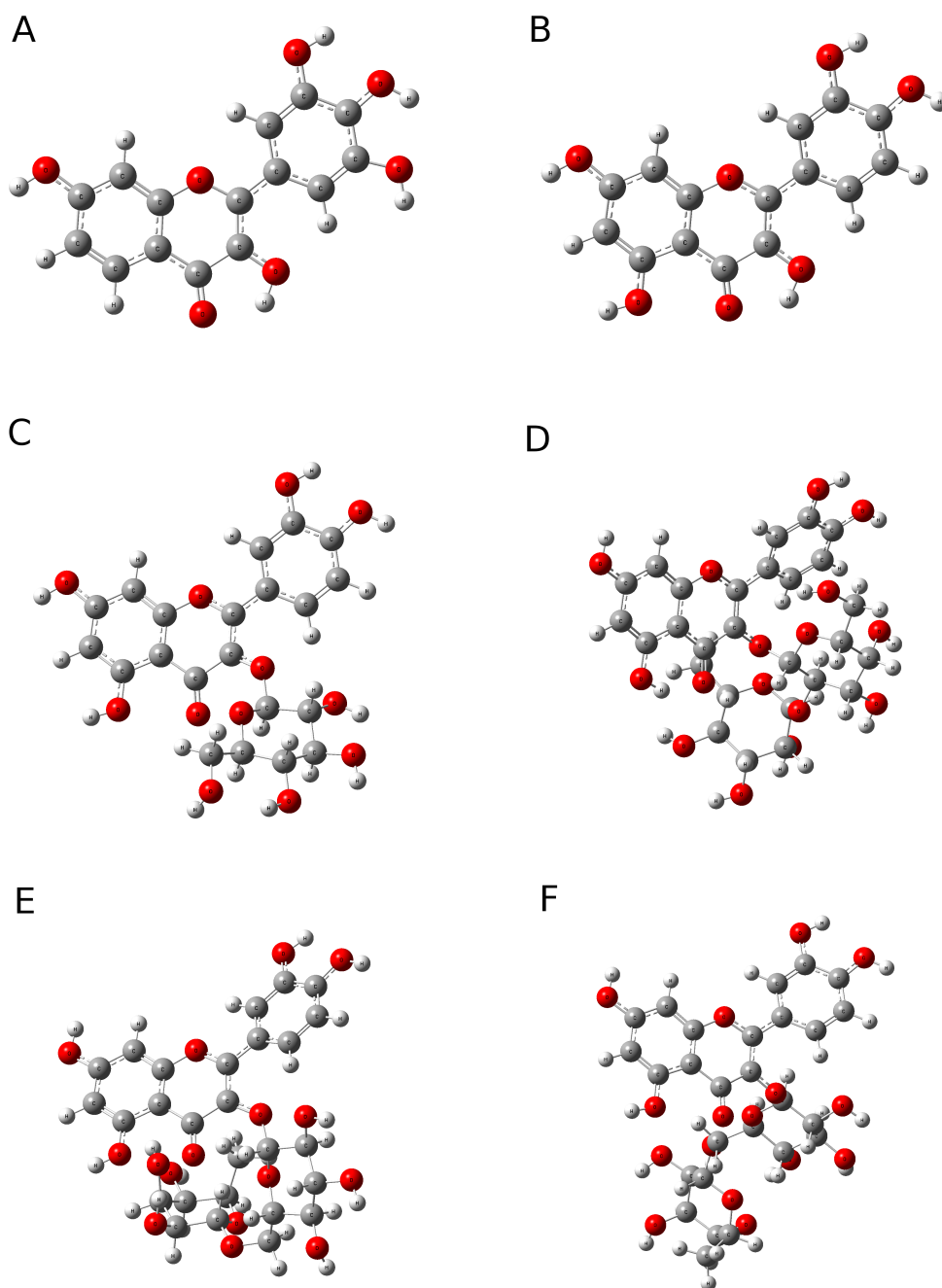


**Figura A.44:** Estructuras radicalarias neutras de gliciteina optimizadas en fase acuosa

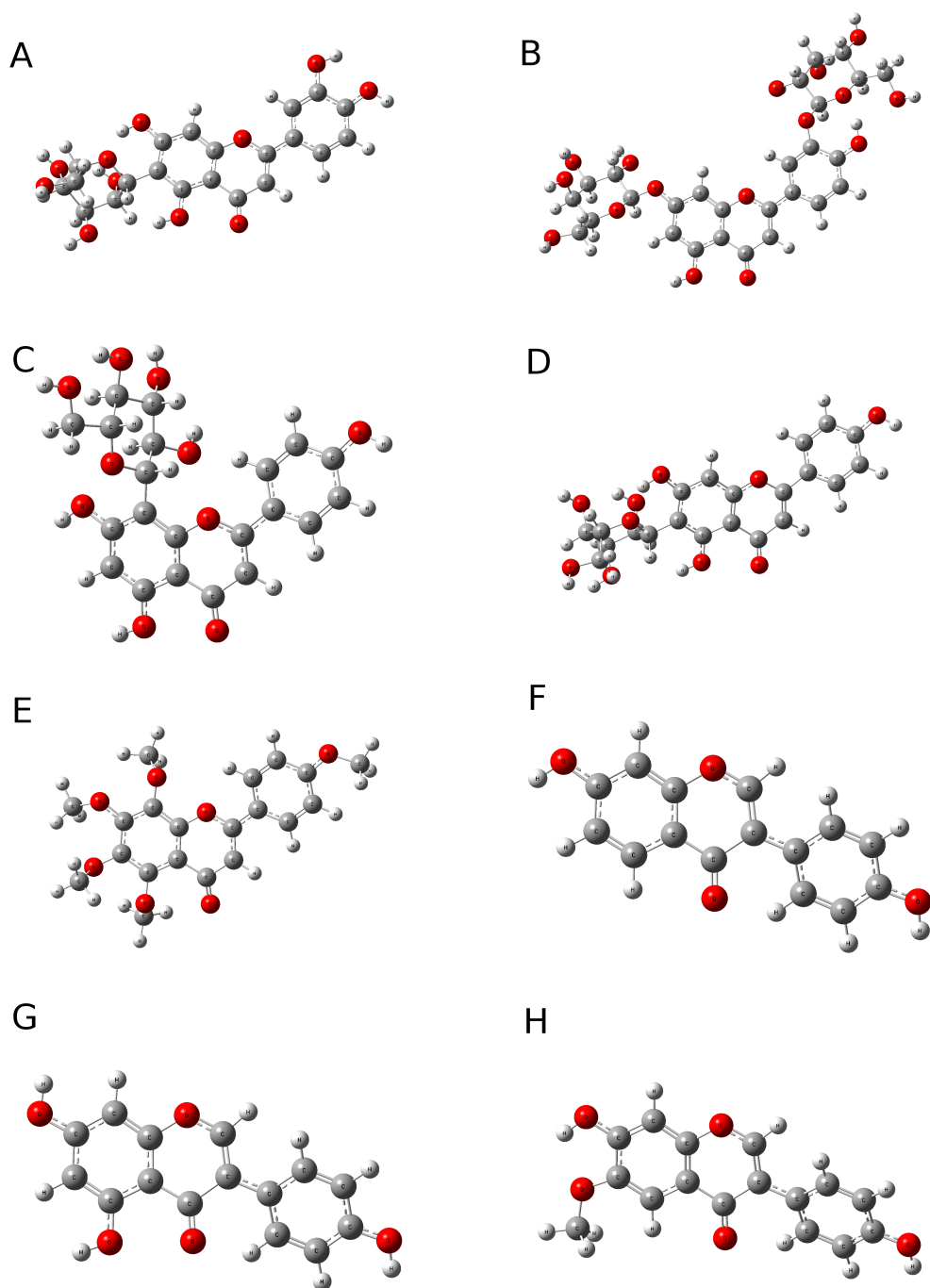
## A.5. Estructuras radicalarias catiónicas en fase gas



**Figura A.45:** Estructuras radicalarias catiónicas optimizadas en fase gas. Flavonoides: A) Catequina. B) Epicatequina. C) Gallocatequina. D) Taxifolina E) Kaempferol. F) Nicotiflorina.

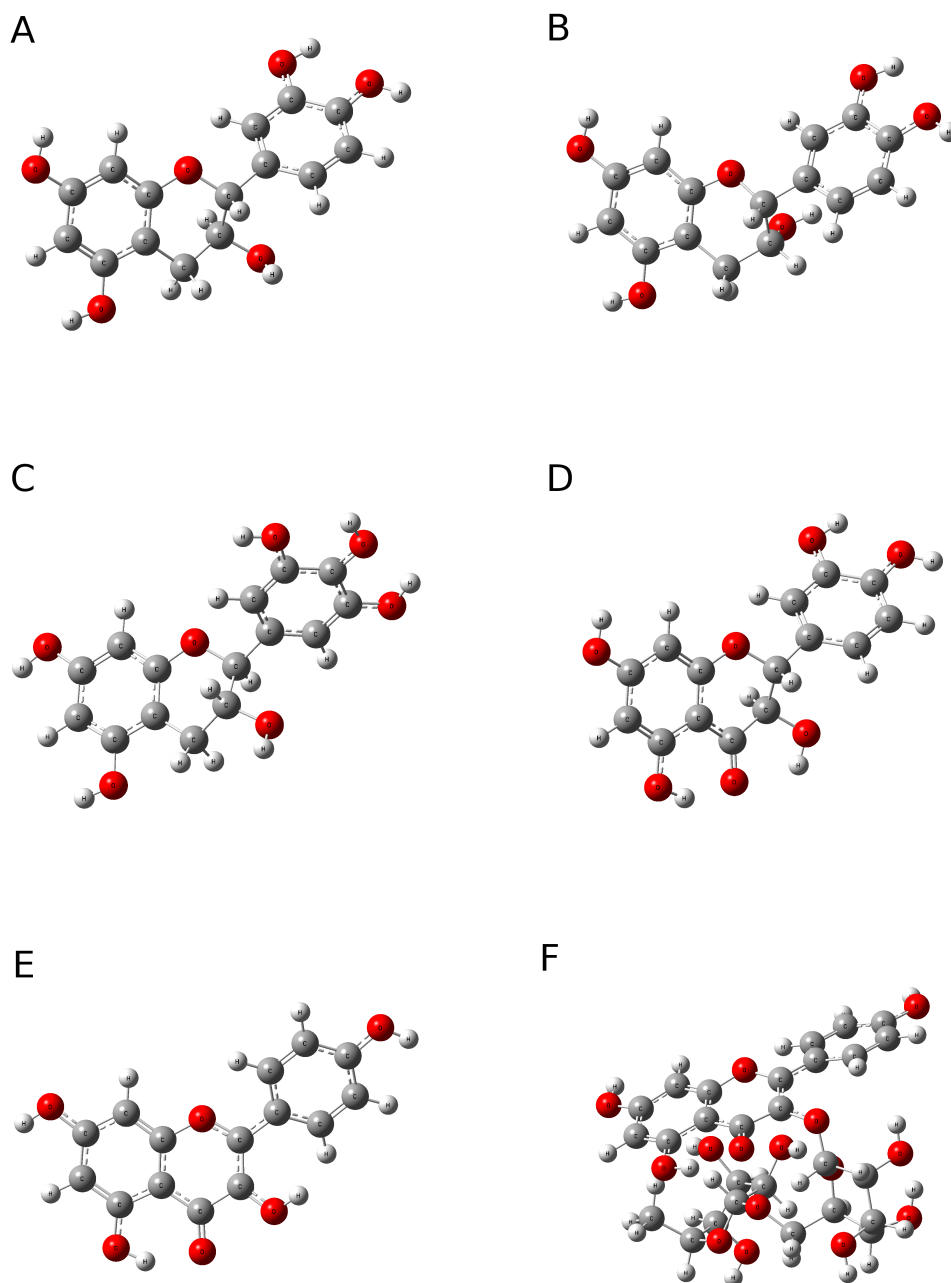


**Figura A.46:** Estructuras radicalarias catiónicas optimizadas en fase gas. Flavonoides: A) Robinetina. B) Quercetina. C) Isoquercetina. D) Quercetina 3-O-neohesperidósido. E) Quercetina 3-O-robinobiosido. F) Rutina.

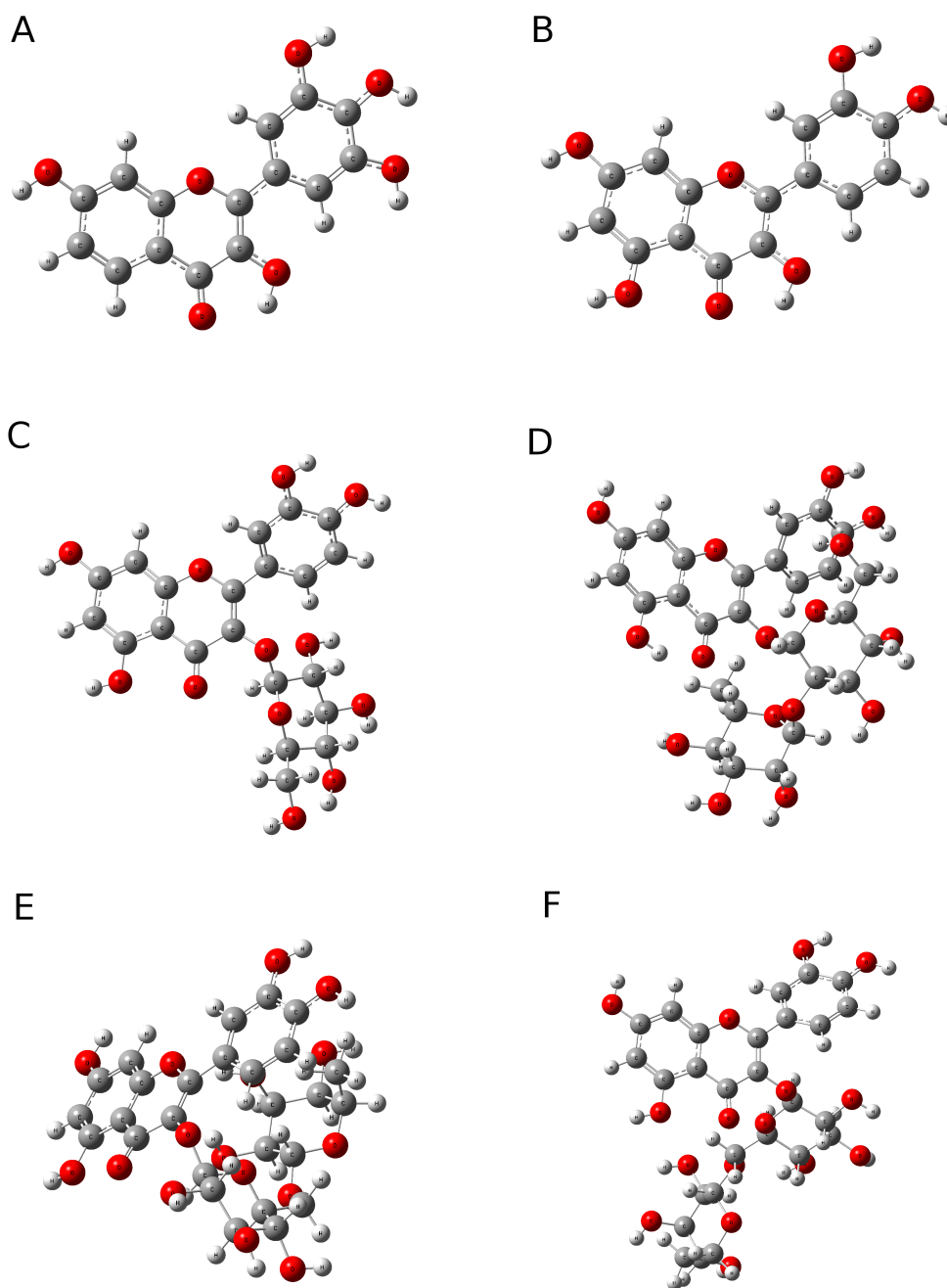


**Figura A.47:** Estructuras radicalarias catiónicas optimizadas en fase gas. Flavonoides: A) Homoorientina. B) Luteolina 7,3'-diglucósido. C) Vitexina. D) Isovitexina. E) Tangeretina. F) Daidzeina. G) Genisteina. H) Gliciteina.

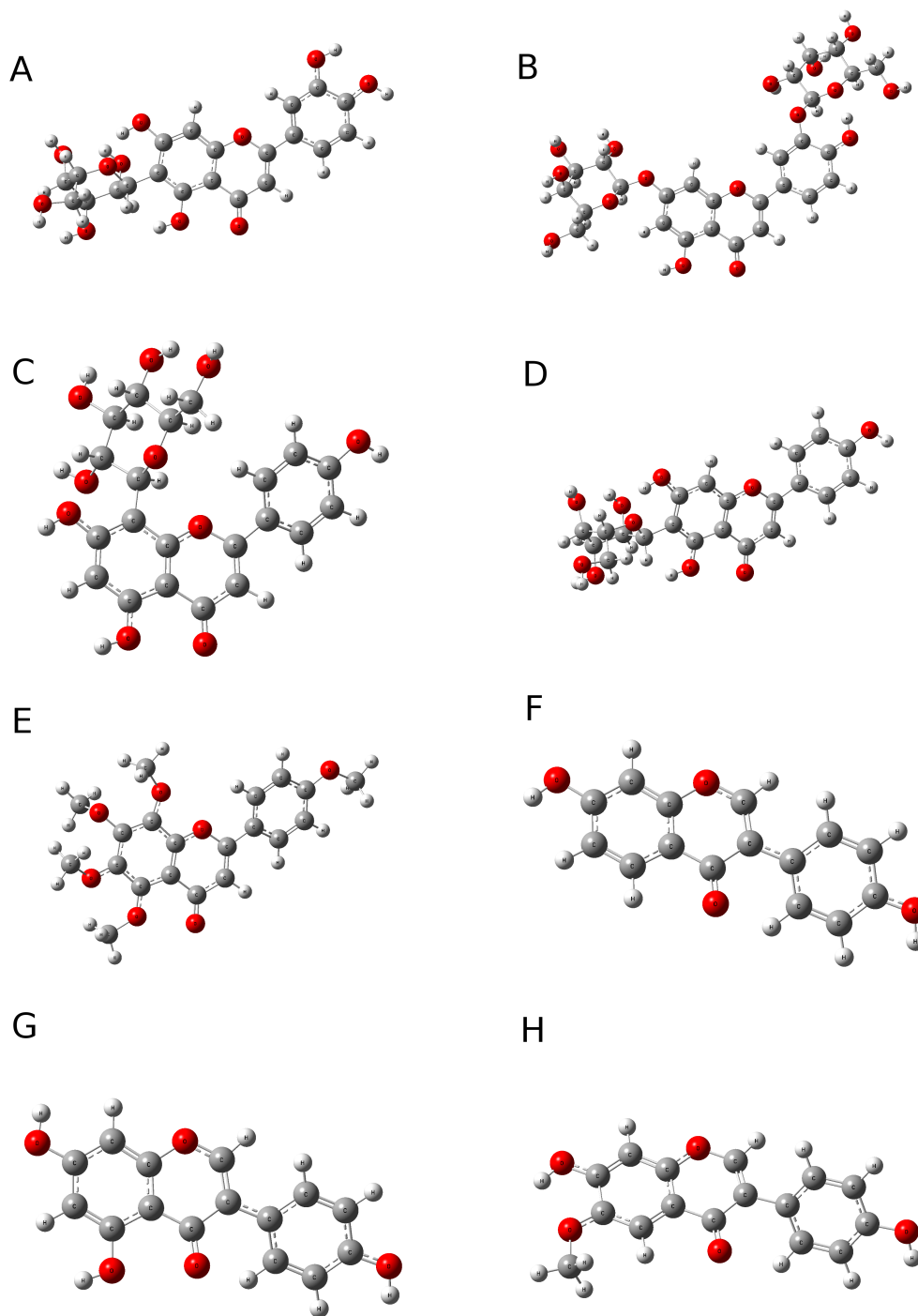
## A.6. Estructuras radicalarias catiónicas en solven- te



**Figura A.48:** Estructuras radicalarias catiónicas optimizadas en fase acuosa. Flavonoides: A) Catequina. B) Epicatequina. C) Galocatequina. D) Taxifolina E) Kaempferol. F) Nicotiflorina.

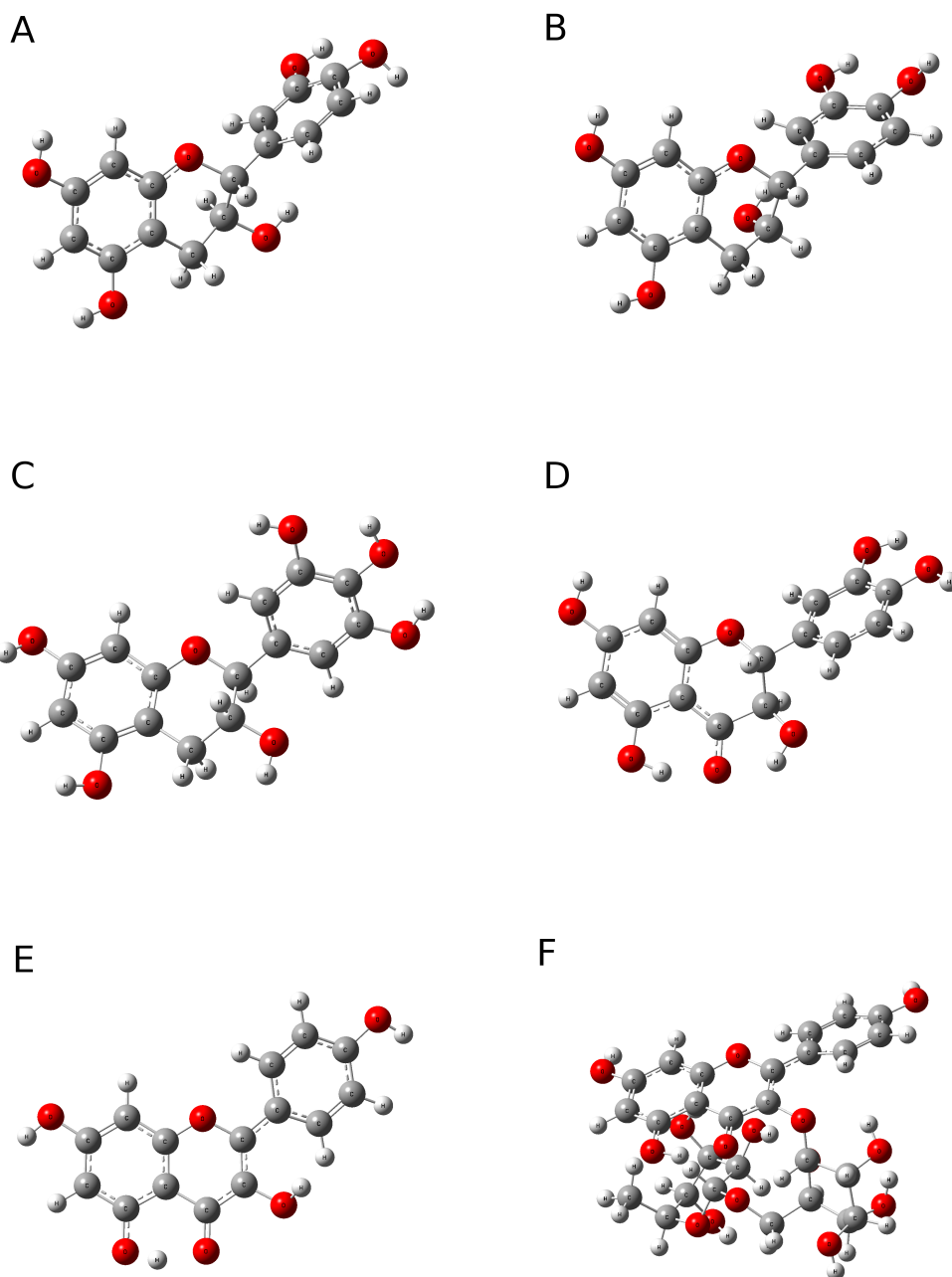


**Figura A.49:** Estructuras radicalarias catiónicas optimizadas en fase acuosa. Flavonoides: A) Robinetina. B) Quercetina. C) Isoquercetina. D) Quercetina 3-O-neohesperidósido. E) Quercetina 3-O-robinobiosido. F) Rutina.

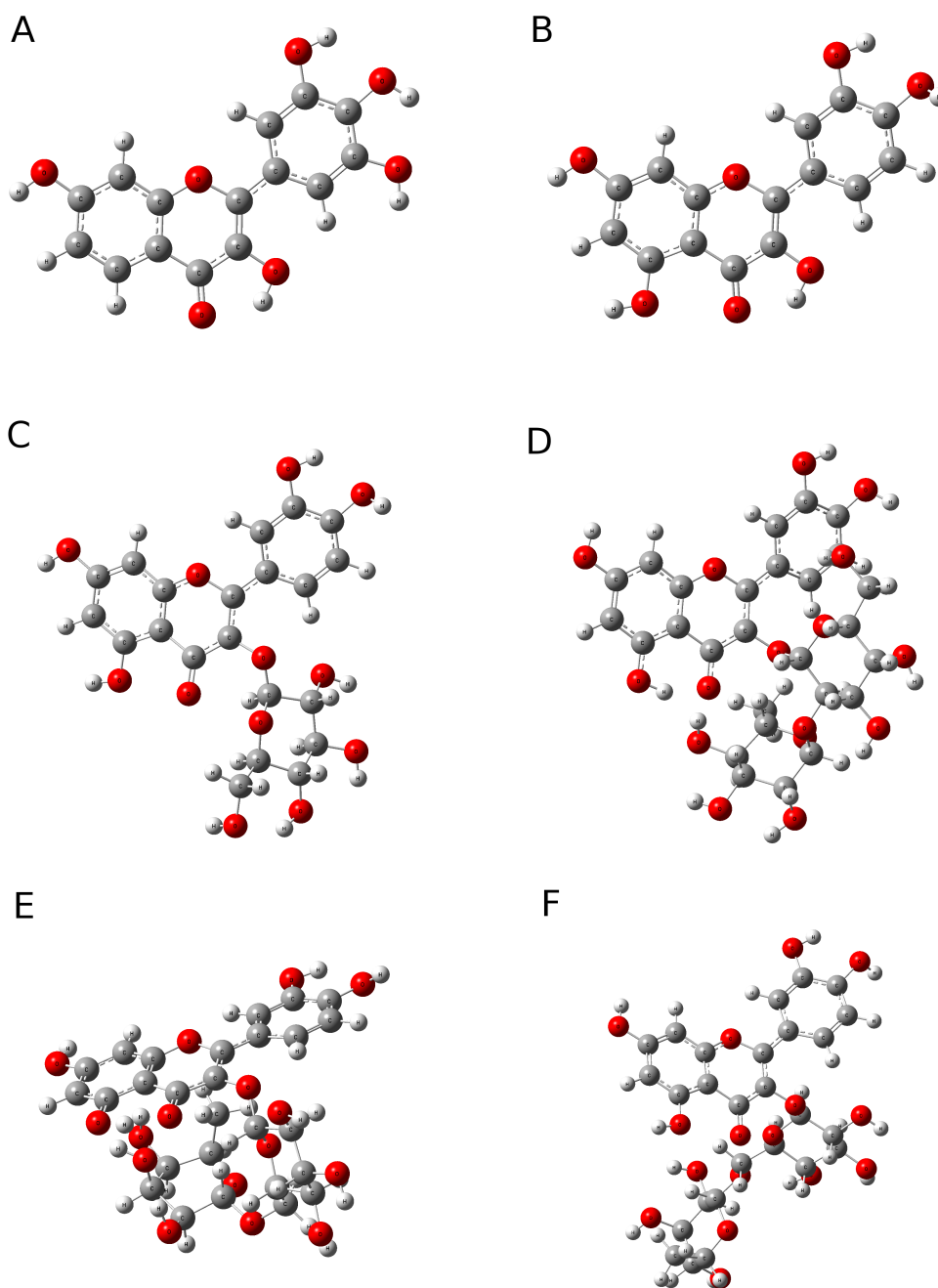


**Figura A.50:** Estructuras radicalarias catiónicas optimizadas en fase acuosa. Flavonoides: A) Homoorientina. B) Luteolina 7,3'-diglucósido. C) Vitexina. D) Isovitexina. E) Tangeretina. F) Daidzeina. G) Genisteina. H) Gliciteina.

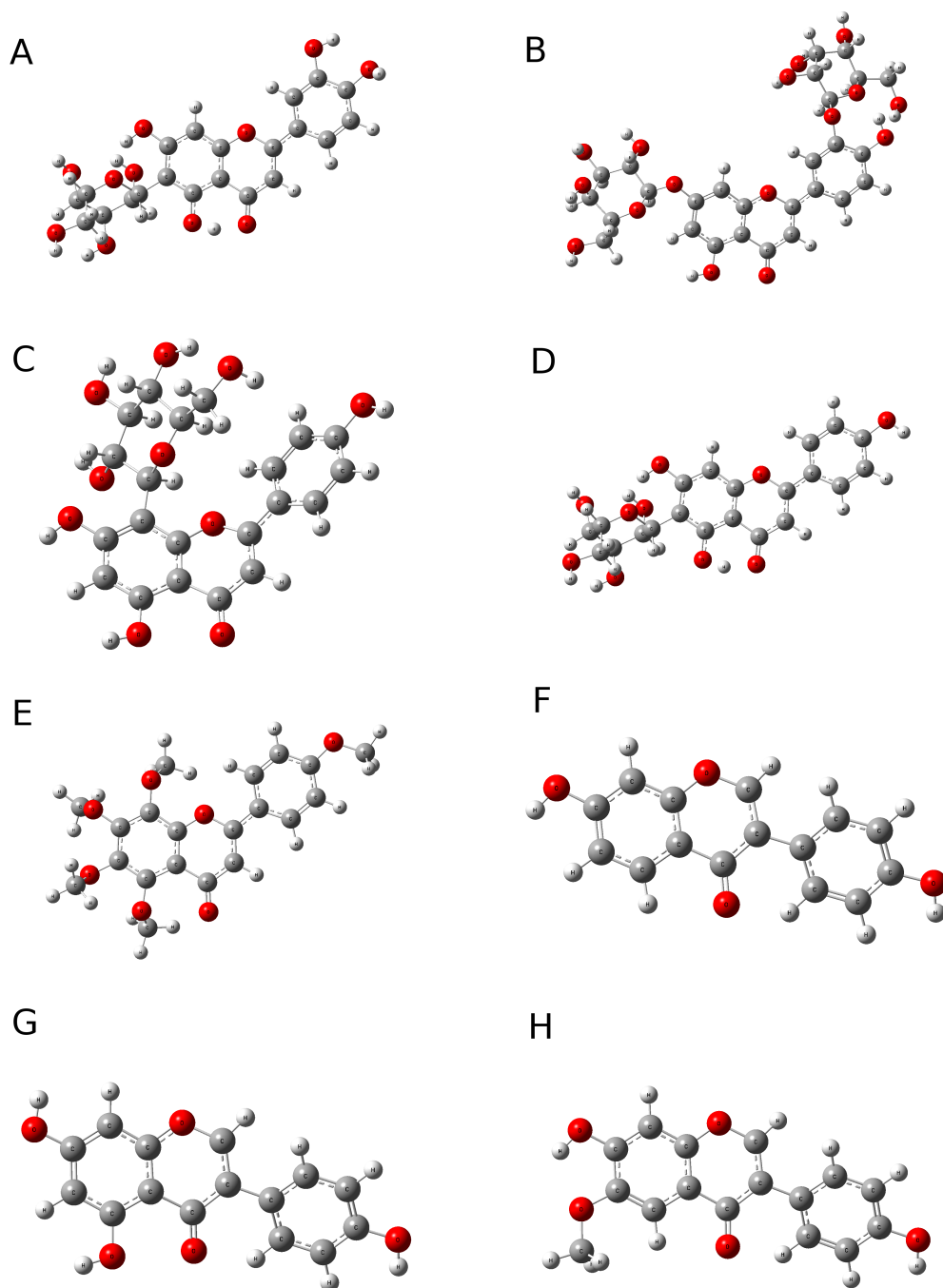
## A.7. Estructuras radicalarias aniónicas en fase gas



**Figura A.51:** Estructuras radicalarias aniónicas optimizadas en fase gas. Flavonoides: A) Catequina. B) Epicatequina. C) Gallocatequina. D) Taxifolina E) Kaempferol. F) Nicotiflorina.

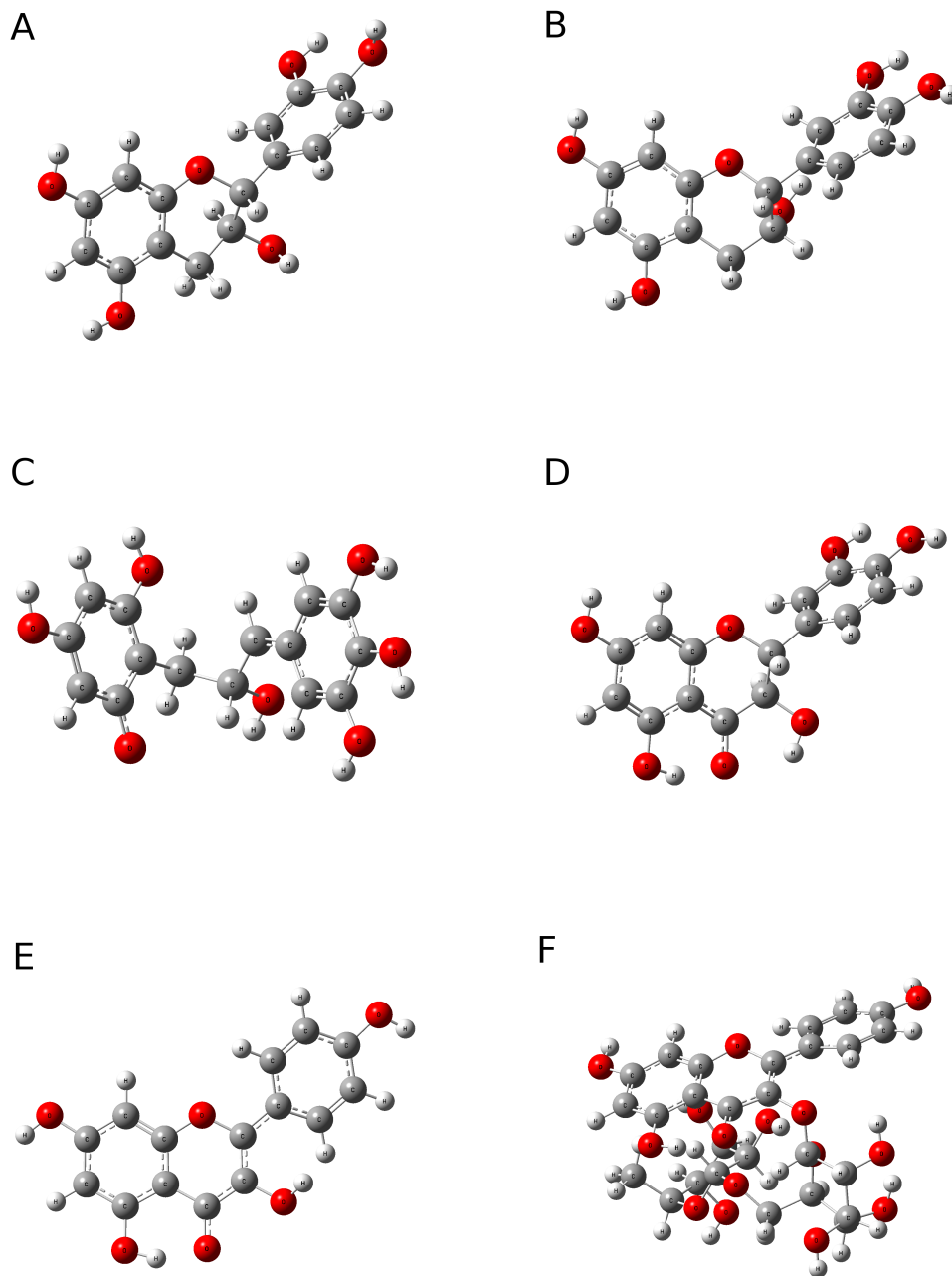


**Figura A.52:** Estructuras radicalarias aniónicas optimizadas en fase gas. Flavonoides: A) Robinetina. B) Quercetina. C) Isoquercetina. D) Quercetina 3-O-neohesperidósido. E) Quercetina 3-O-robinobiosido. F) Rutina.

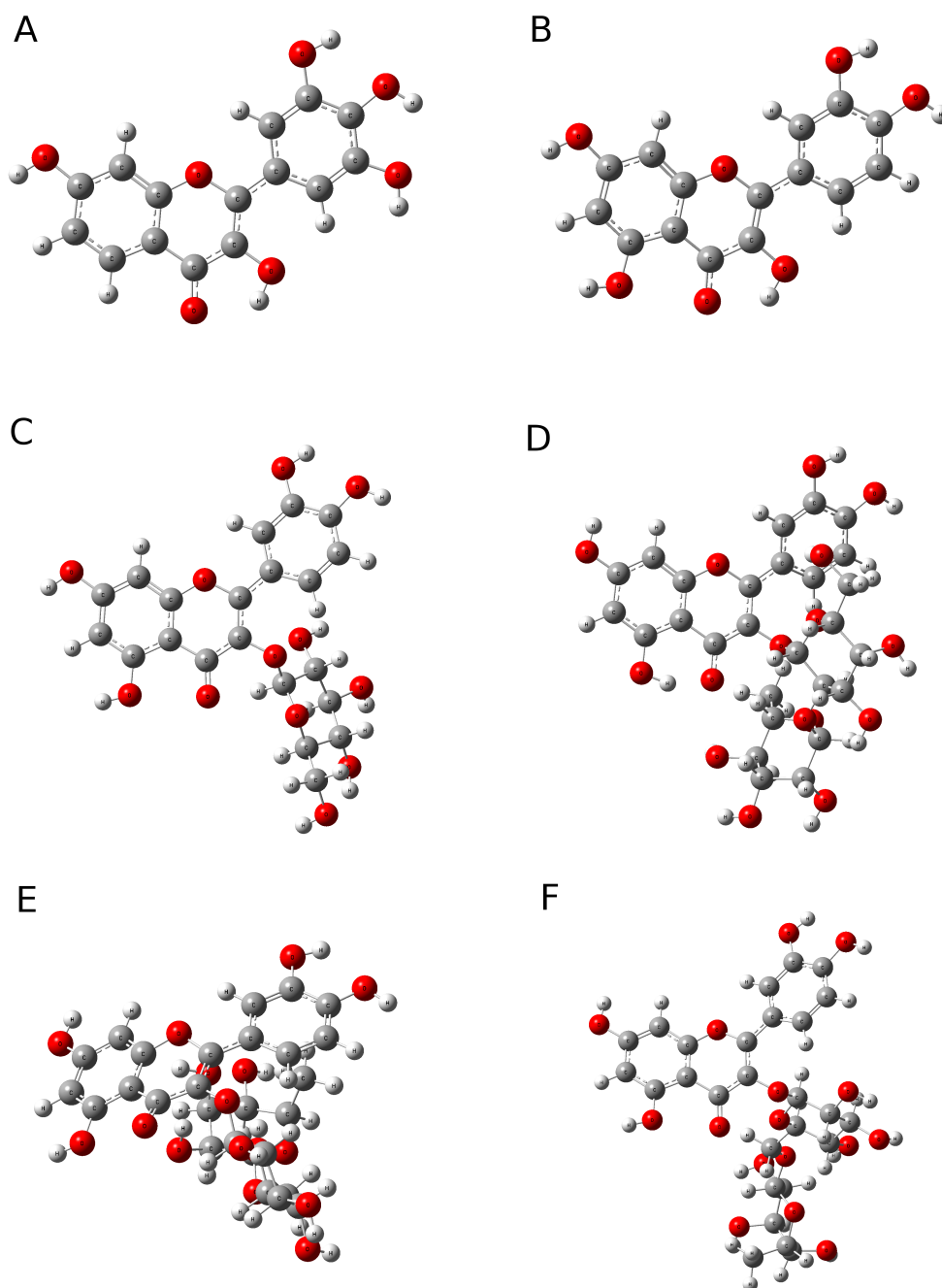


**Figura A.53:** Estructuras radicalarias aniónicas optimizadas en fase gas. Flavonoides: A) Homoorientina. B) Luteolina 7,3'-diglucósido. C) Vitexina. D) Isovitexina. E) Tangeretina. F) Daidzeina. G) Genisteina. H) Gliciteina.

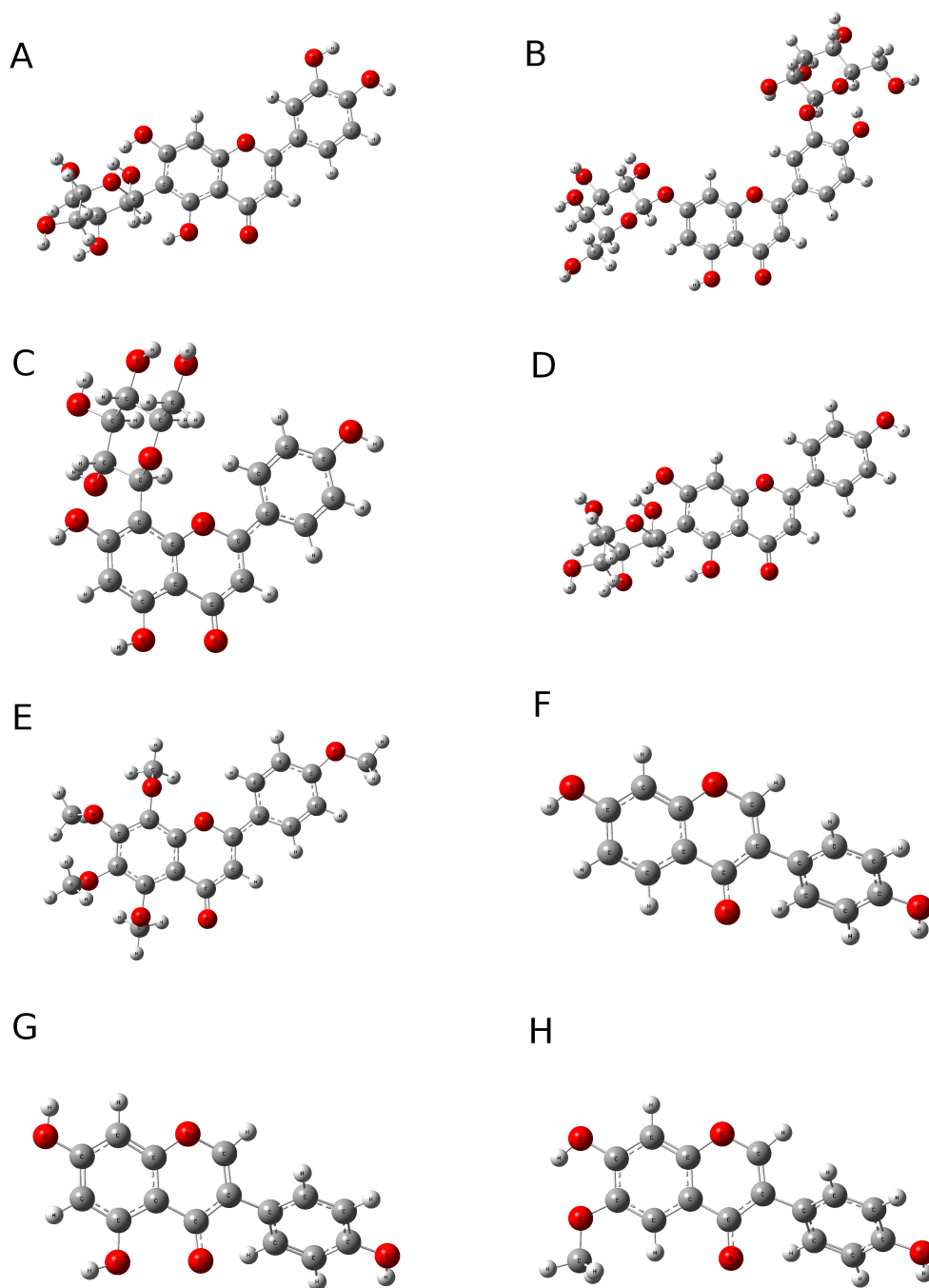
## A.8. Estructuras radicalarias aniónicas en solven- te



**Figura A.54:** Estructuras radicalarias aniónicas optimizadas en fase acuosa. Flavonoides: A) Catequina. B) Epicatequina. C) Galocatequina. D) Taxifolina E) Kaempferol. F) Nicotiflorina.

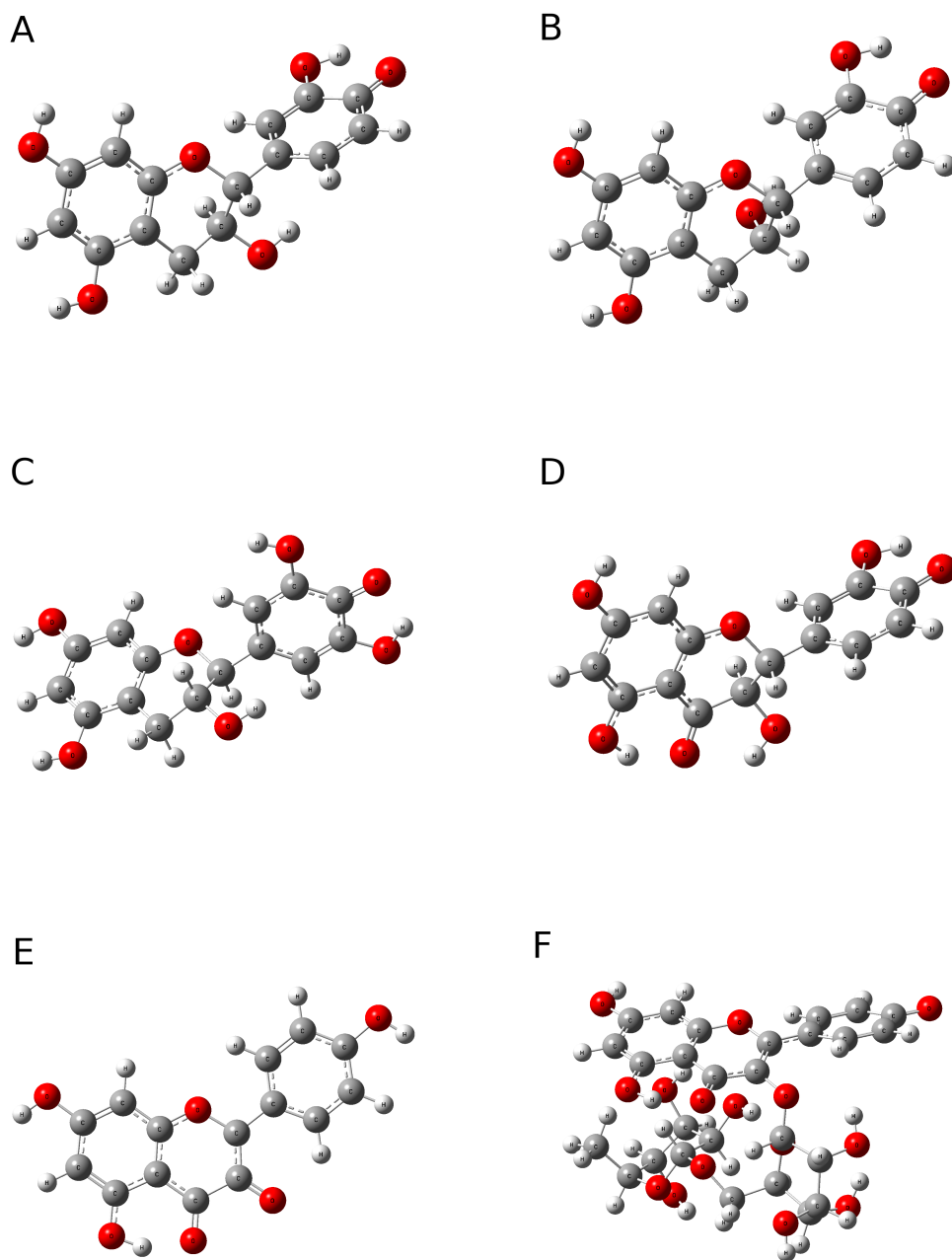


**Figura A.55:** Estructuras radicalarias aniónicas optimizadas en fase acuosa. Flavonoides: A) Robinetina. B) Quercetina. C) Isoquercetina. D) Quercetina 3-O-neohesperidósido. E) Quercetina 3-O-robinobiosido. F) Rutina.

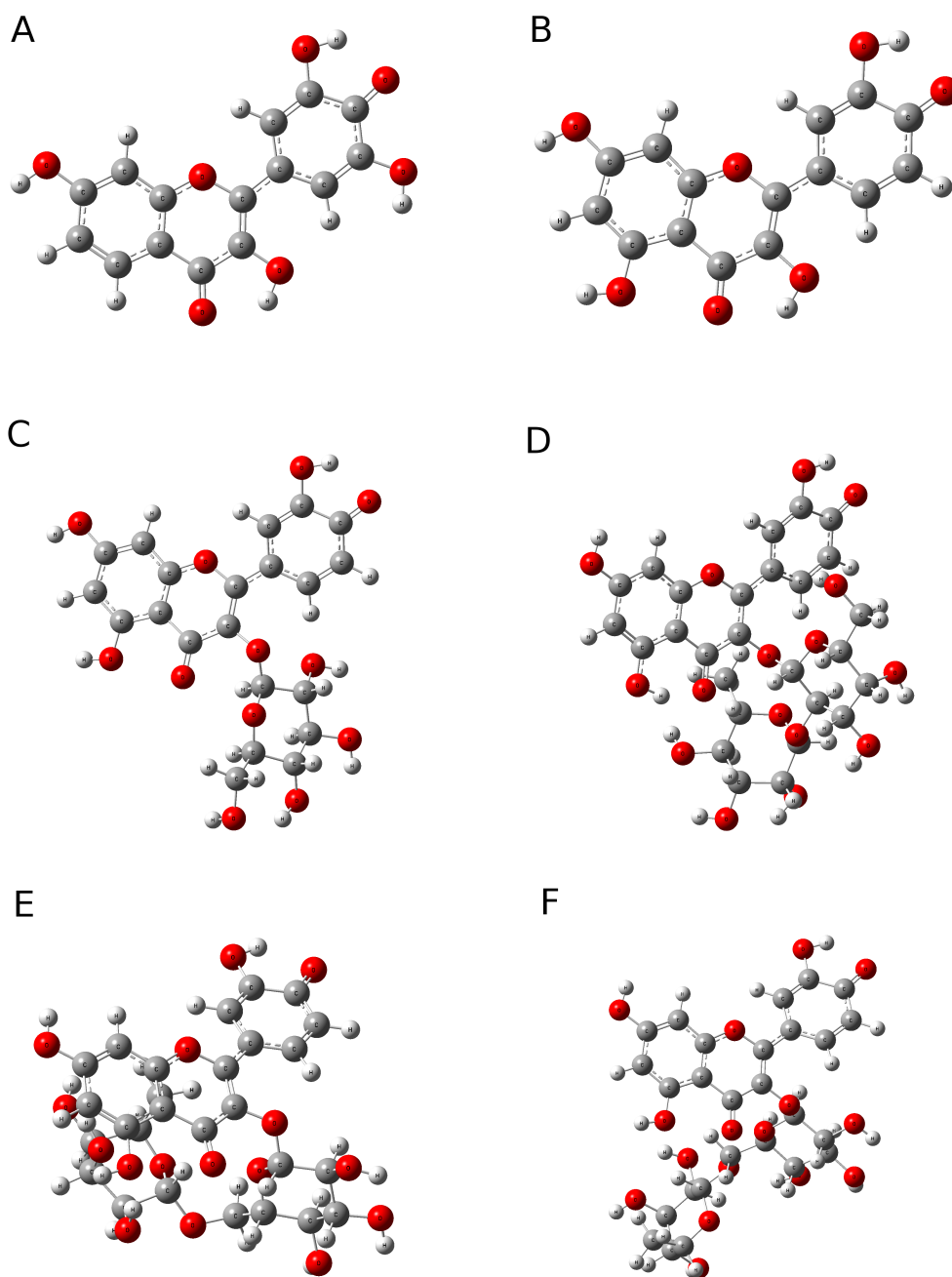


**Figura A.56:** Estructuras radicalarias aniónicas optimizadas en fase acuosa. Flavonoides: A) Homooorientina. B) Luteolina 7,3'-diglucósido. C) Vitexina. D) Isovitexina. E) Tangeretina. F) Daidzeina. G) Genisteina. H) Gliciteina.

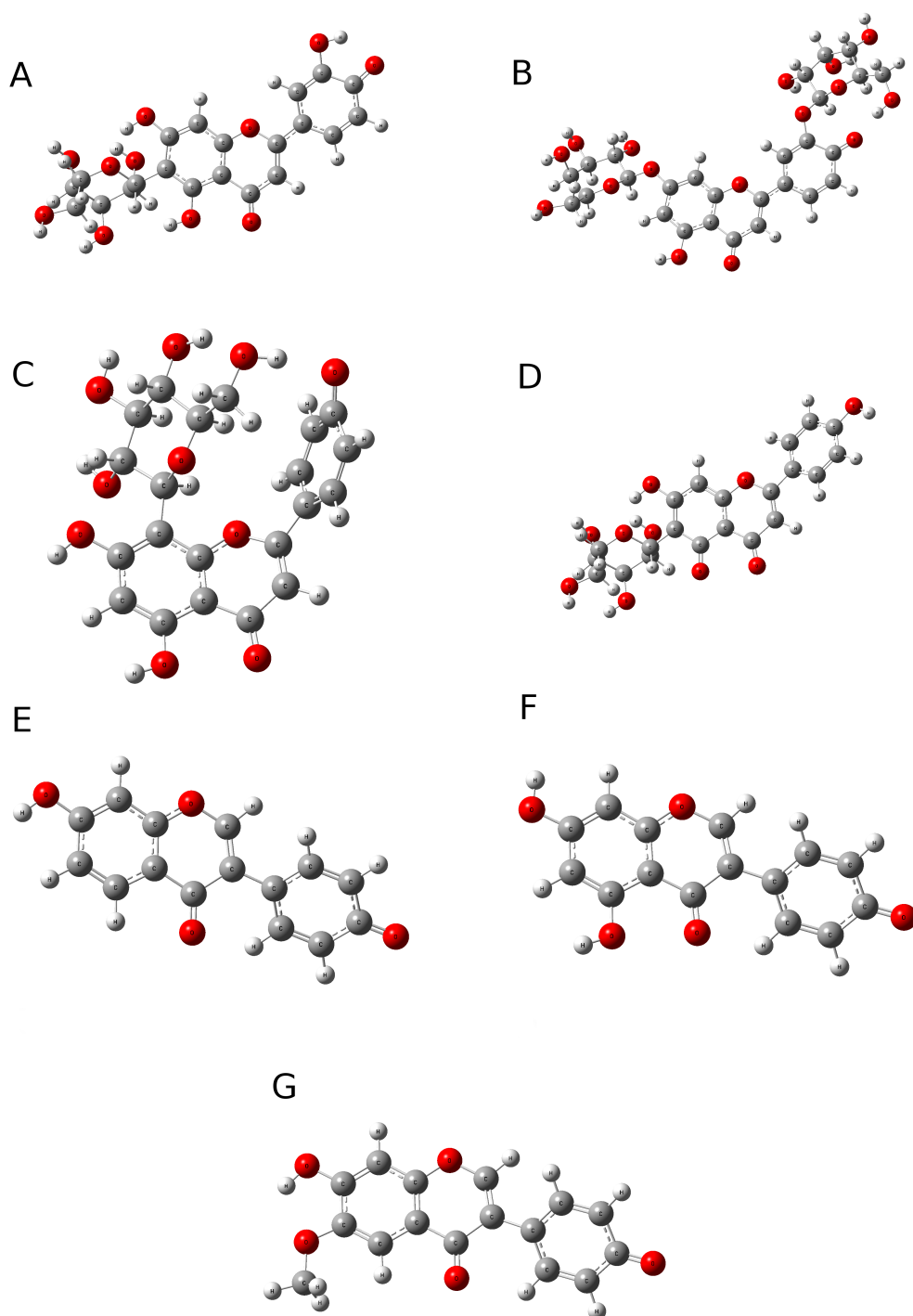
## A.9. Estructuras aniónicas en fase gas



**Figura A.57:** Estructuras aniónicas optimizadas en fase gas. Flavonoides: A) Catequina ( $4'-O^-$ ). B) Epicatequina ( $4'-O^-$ ). C) Gallocatequina ( $4'-O^-$ ). D) Taxifolina ( $4'-O^-$ ). E) Kaempferol ( $3-O^-$ ). F) Nicotiflorina ( $4'-O^-$ ).

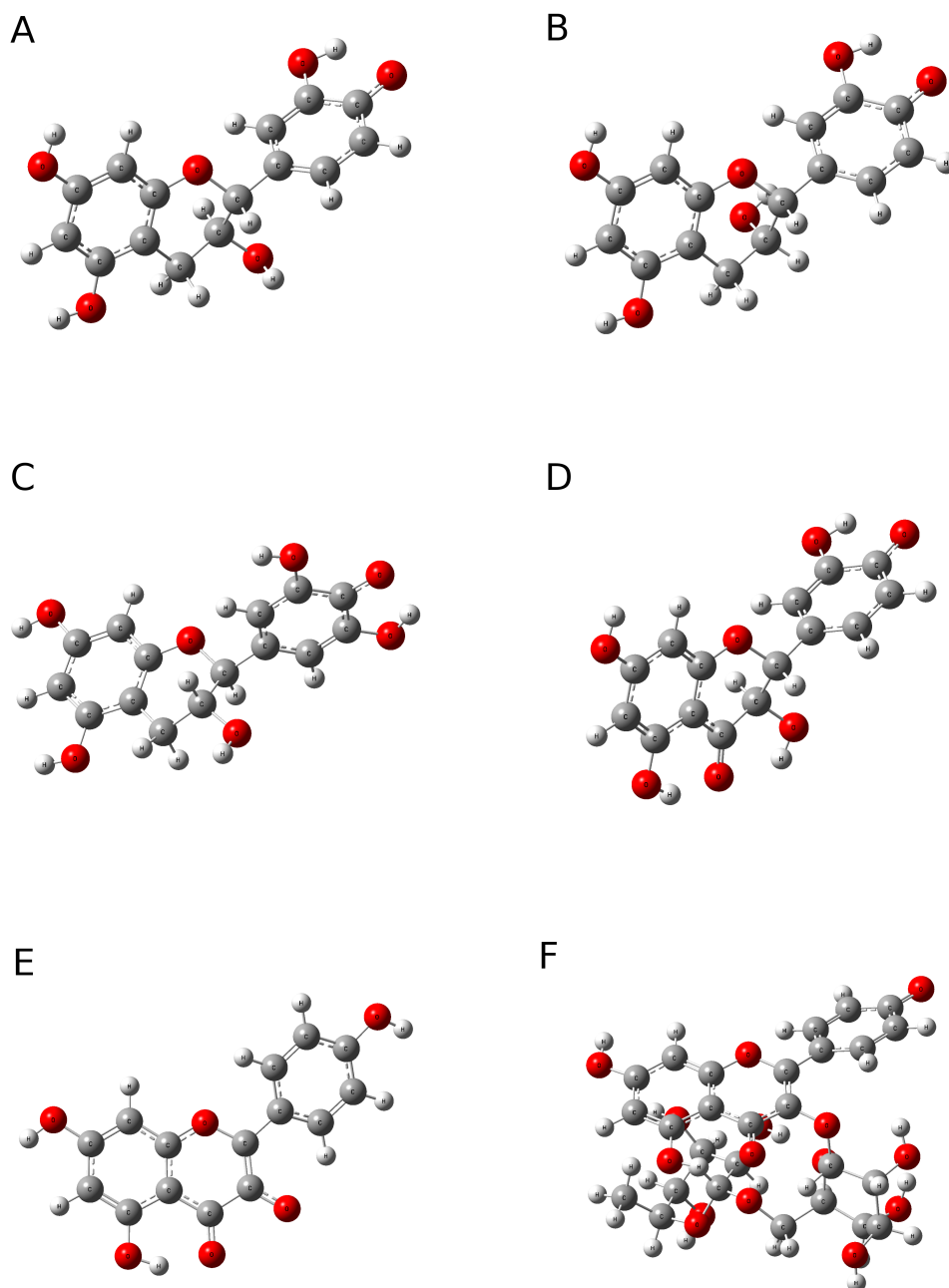


**Figura A.58:** Estructuras aniónicas optimizadas en fase gas. Flavonoides: A) Robinetina ( $4'-O^-$ ). B) Quercetina ( $4'-O^-$ ). C) Isoquercetina ( $4'-O^-$ ). D) Quercetina 3-O-neohesperidósido ( $4'-O^-$ ). E) Quercetina 3-O-robinobiosido ( $4'-O^-$ ). F) Rutina ( $4'-O^-$ ).

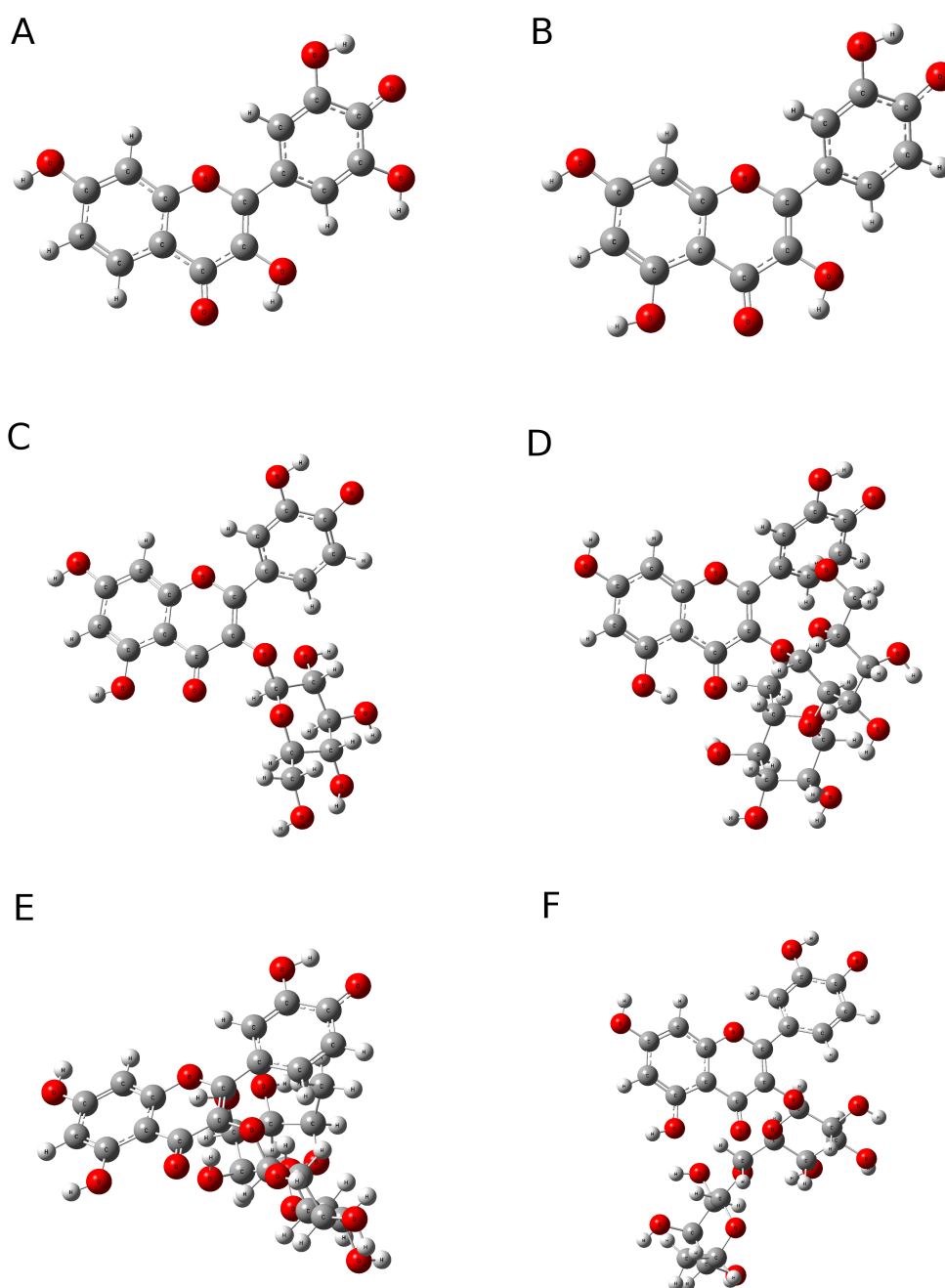


**Figura A.59:** Estructuras aniónicas optimizadas en fase gas. Flavonoides: A) Homoorientina ( $4'-O^-$ ). B) Luteolina 7,3'-diglucósido ( $4'-O^-$ ). C) Vitexina ( $4'-O^-$ ). D) Isovitexina ( $5-O^-$ ). E) Tangeretina ( $4'-O^-$ ). F) Daidzeina ( $4'-O^-$ ). G) Genisteina ( $4'-O^-$ ). H) Gliciteina ( $4'-O^-$ ).

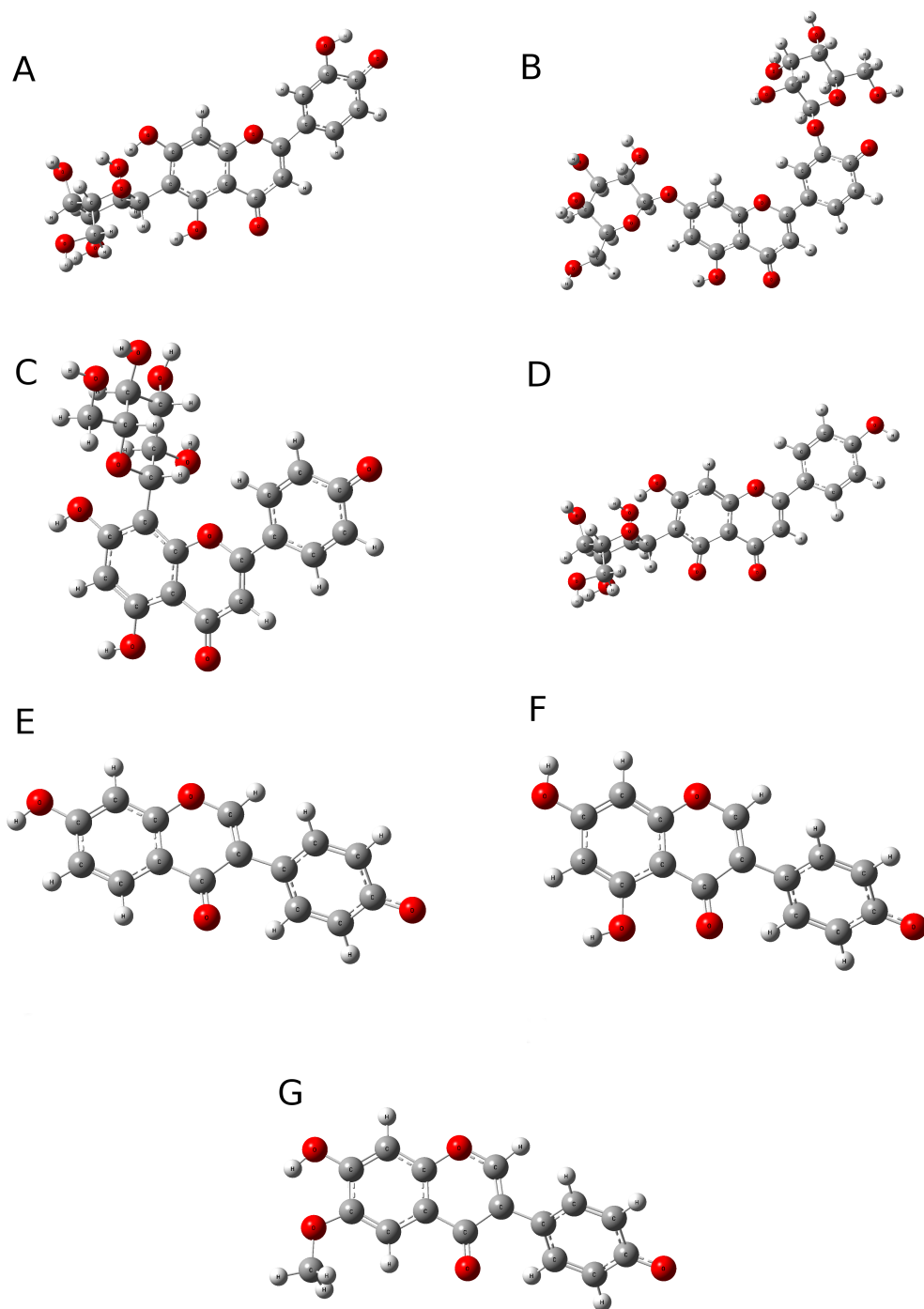
## A.10. Estructuras aniónicas en fase acuosa



**Figura A.60:** Estructuras aniónicas optimizadas en fase acuosa. Flavonoides: A) Catequina ( $4'-O^-$ ). B) Epicatequina ( $4'-O^-$ ). C) Galocatequina ( $4'-O^-$ ). D) Taxifolina ( $4'-O^-$ ). E) Kaempferol ( $3-O^-$ ). F) Nicotiflorina ( $4'-O^-$ ).

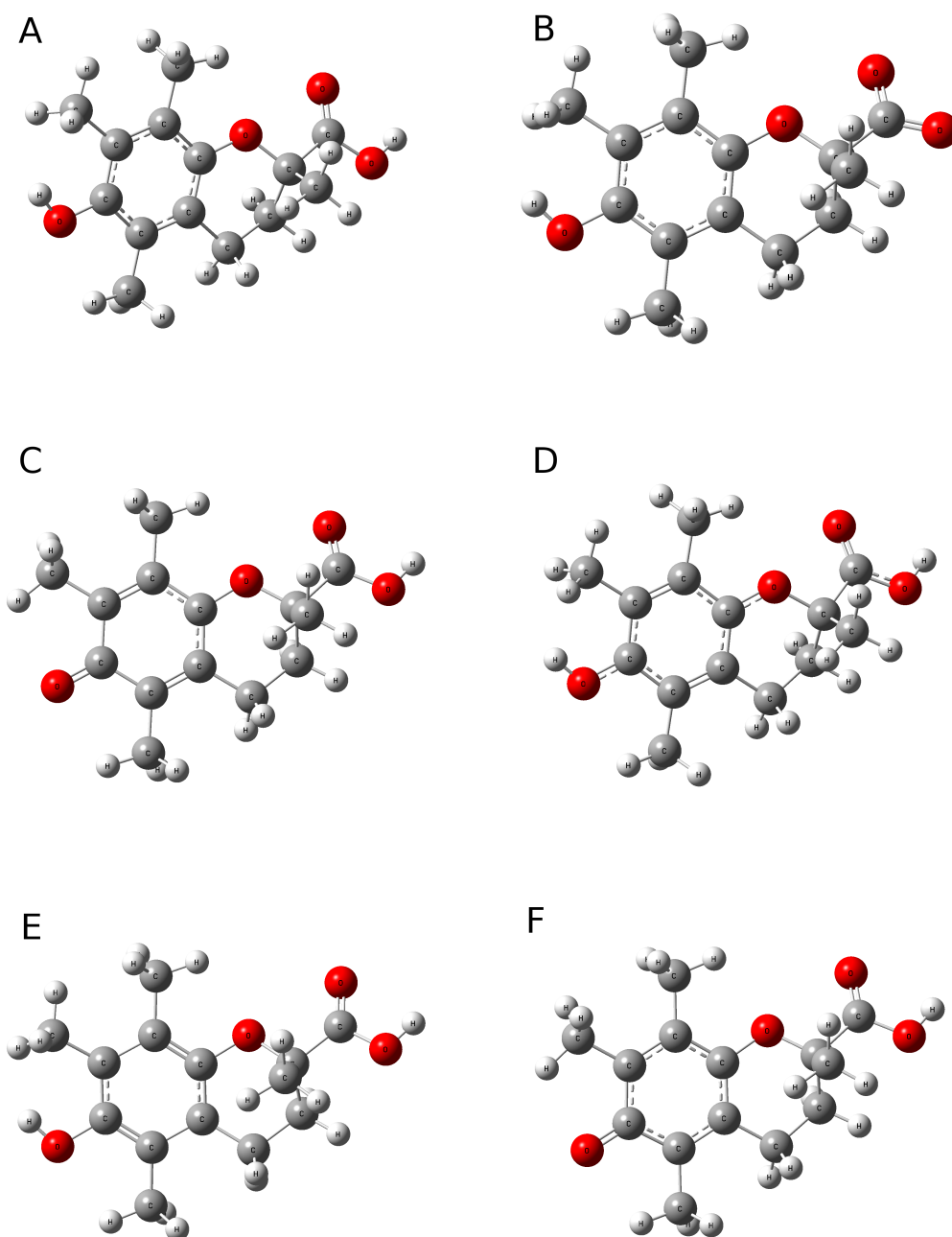


**Figura A.61:** Estructuras aniónicas optimizadas en fase acuosa. Flavonoides: A) Robinetina ( $4'-O^-$ ). B) Quercetina ( $4'-O^-$ ). C) Isoquercetina ( $4'-O^-$ ). D) Quercetina 3-O-neohesperidósido ( $4'-O^-$ ). E) Quercetina 3-O-robinobiosido ( $4'-O^-$ ). F) Rutina ( $4'-O^-$ ).



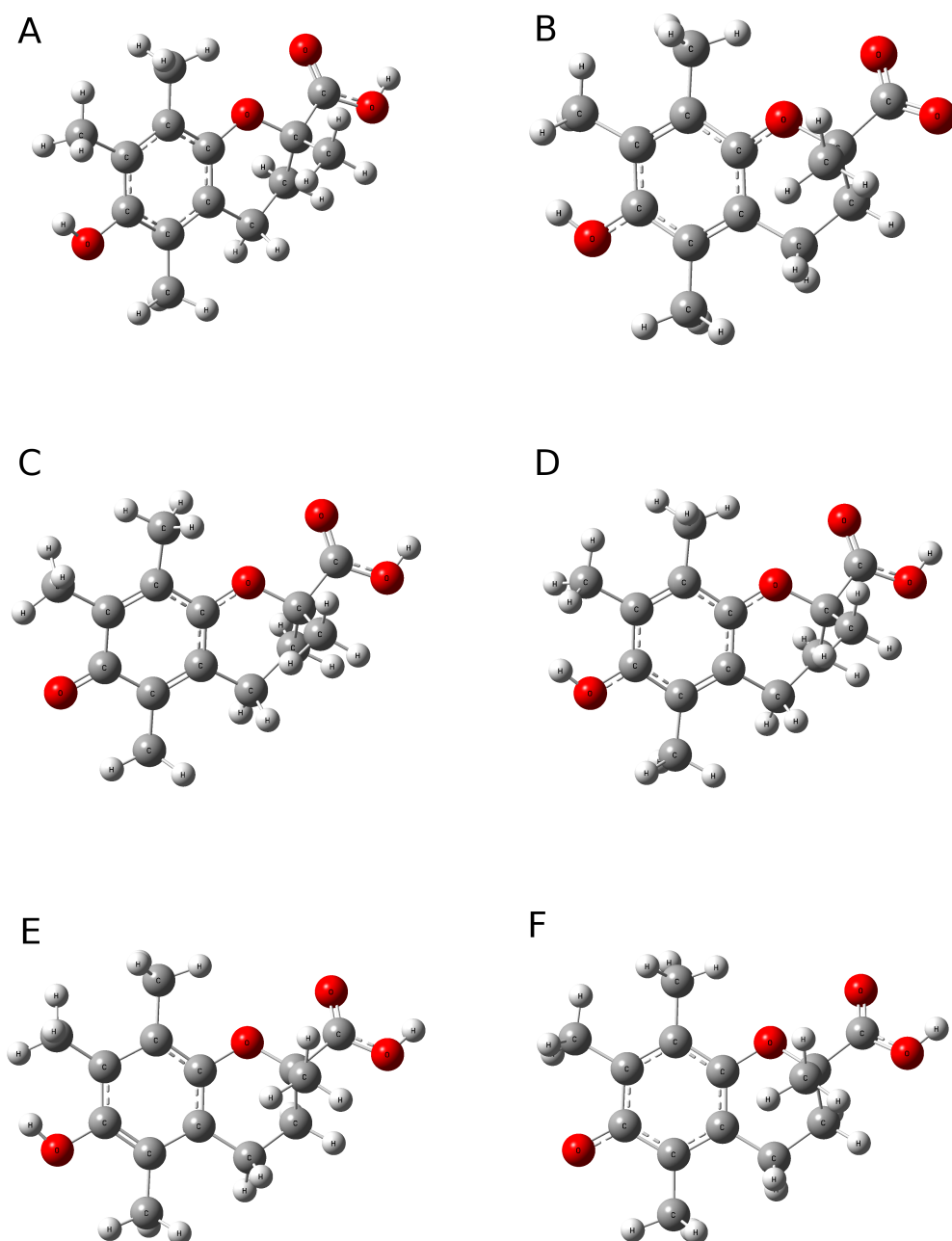
**Figura A.62:** Estructuras aniónicas optimizadas en fase acuosa. Flavonoides: A) Homoorientina ( $4'-O^-$ ). B) Luteolina 7,3'-diglucósido ( $4'-O^-$ ). C) Vitexina ( $4'-O^-$ ). D) Isovitexina ( $5-O^-$ ). E) Tangeretina ( $4'-O^-$ ). F) Daidzeina ( $4'-O^-$ ). G) Genisteina ( $4'-O^-$ ). H) Gliciteina ( $4'-O^-$ ).

## A.11. Estructuras del Trolox en fase gas



**Figura A.63:** Estructuras del Trolox optimizadas en fase gas. A) Inicial. B) Radical neutro 2-COO•. C) Radical neutro 6-O•. D) Radical catiónico. E) Radical aniónico. F) Anión 6-O<sup>-</sup>.

## A.12. Estructuras del Trolox en fase acuosa



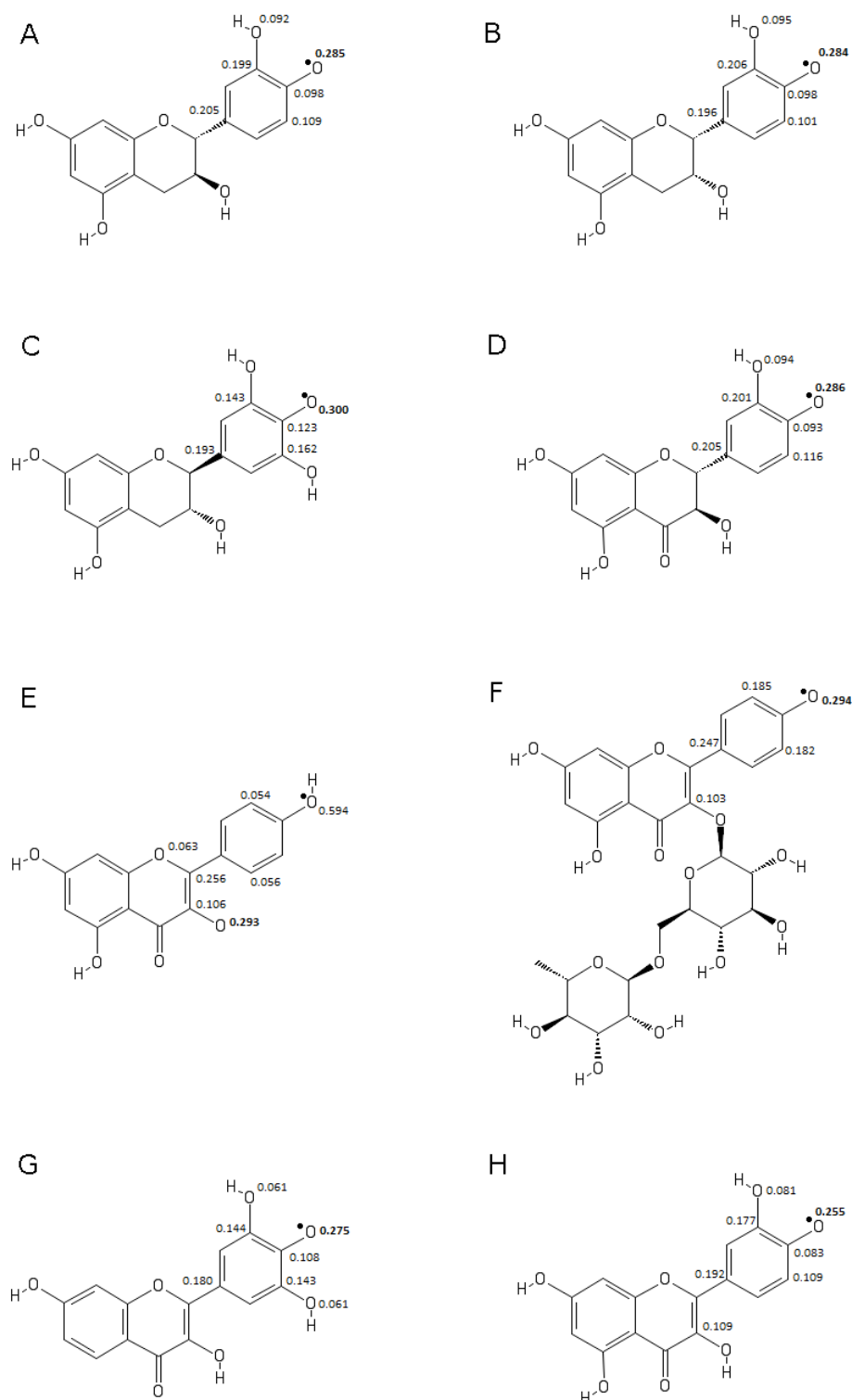
**Figura A.64:** Estructuras del Trolox optimizadas en fase acuosa. A) Inicial. B) Radical neutro 2-COO<sup>•</sup>. C) Radical neutro 6-O<sup>•</sup>. D) Radical catiónico. E) Radical aniónico. F) Anión 6-O<sup>-</sup>.

## Anexo B

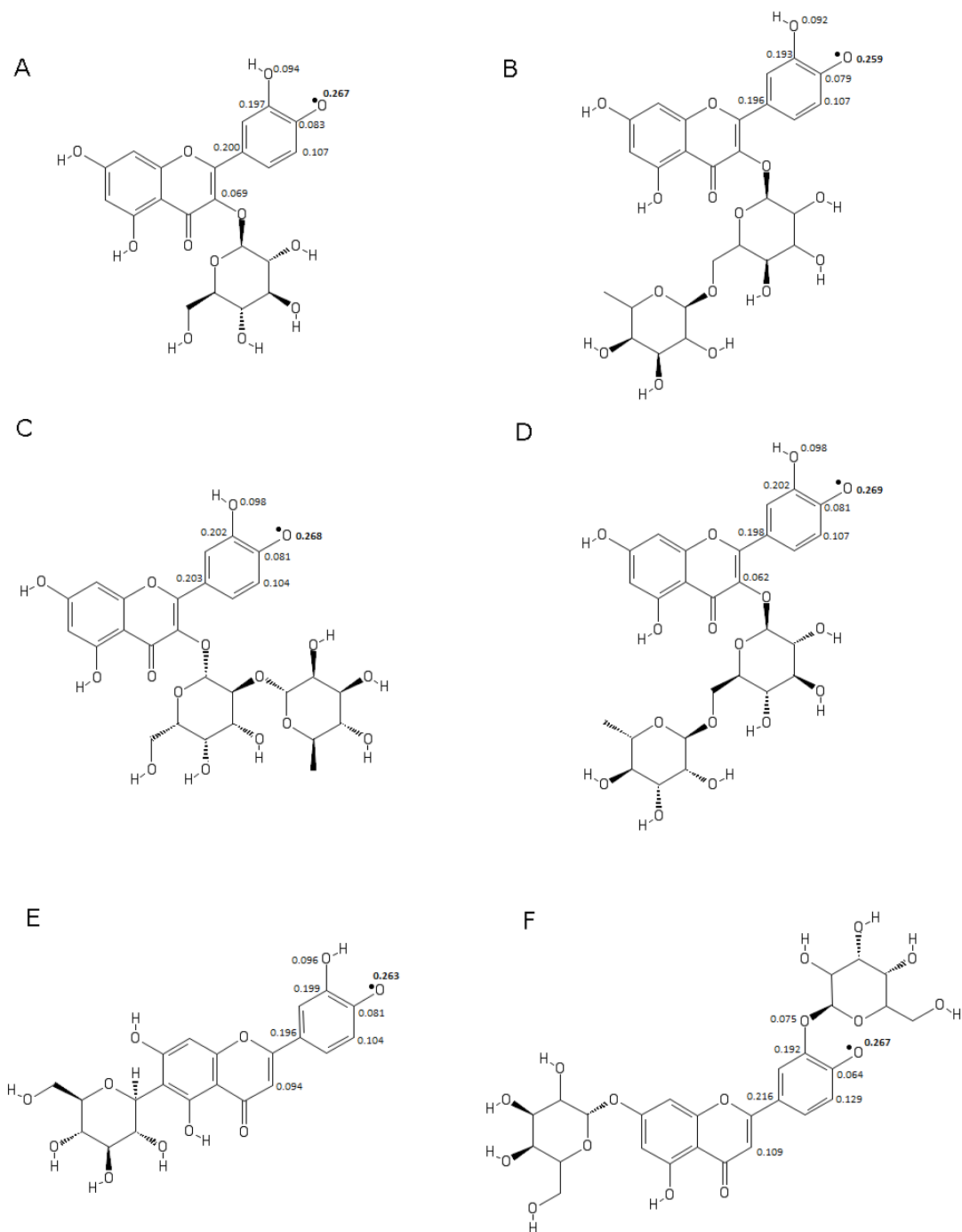
# Distribución de la densidad de espín



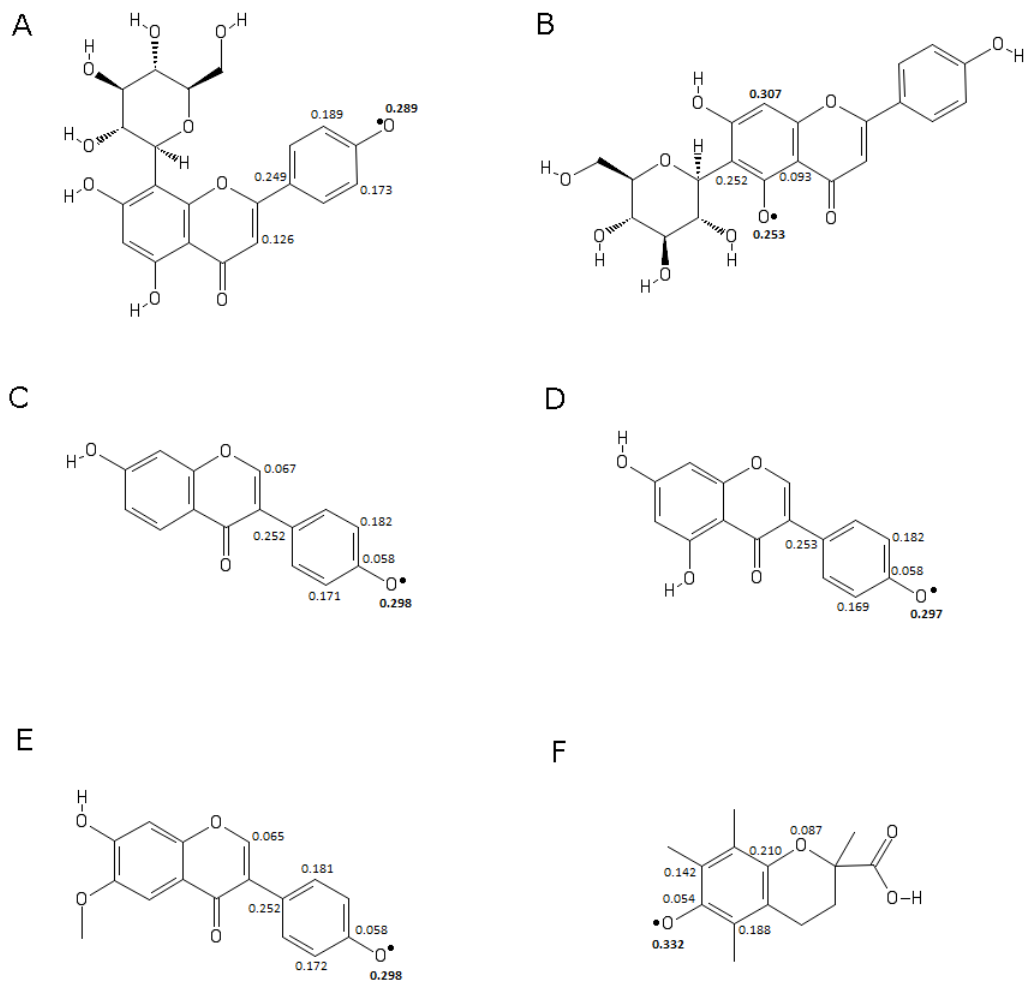
## B.1. Estructuras radicalarias neutras en fase acuosa



**Figura B.1:** Distribución de densidad de espín en las estructuras radicalarias neutras en fase acuosa. Flavonoides: A) Catequina. B) Epicatequina. C) Gallocatequina. D) Taxifolina. E) Kaempferol. F) Nicotiflorina. G) Robinetina. H) Quercetina.

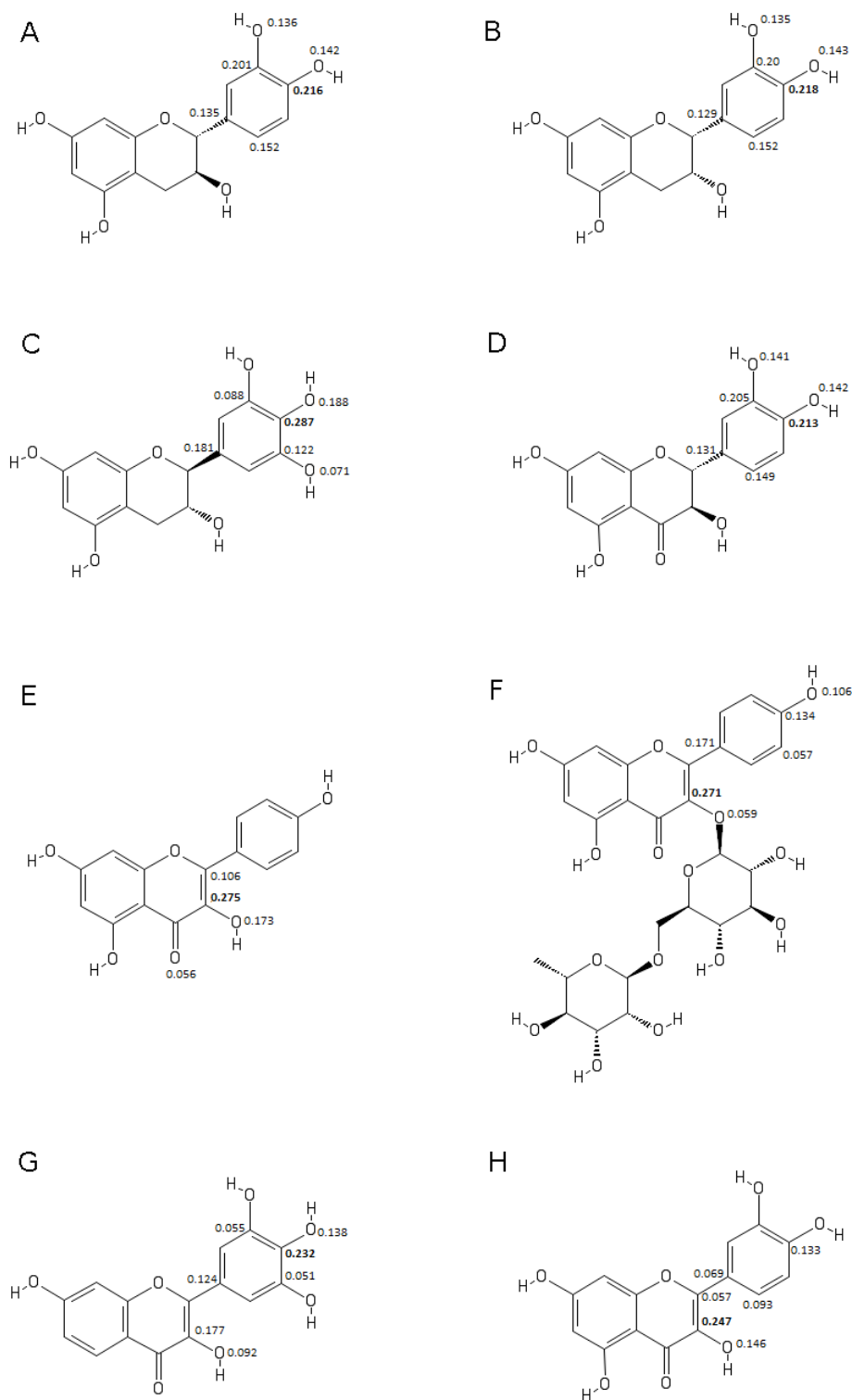


**Figura B.2:** Distribución de densidad de espín en las estructuras radicalarias neutras en fase acuosa. Flavonoides: A) Isoquercetina. B) Quercetina 3-O-robinobiosido. C) Quercetina 3-O-neohesperidobiosido. D) Rutina. E) Homoorientina. F) Luteolina 7,3'-diglucósido.

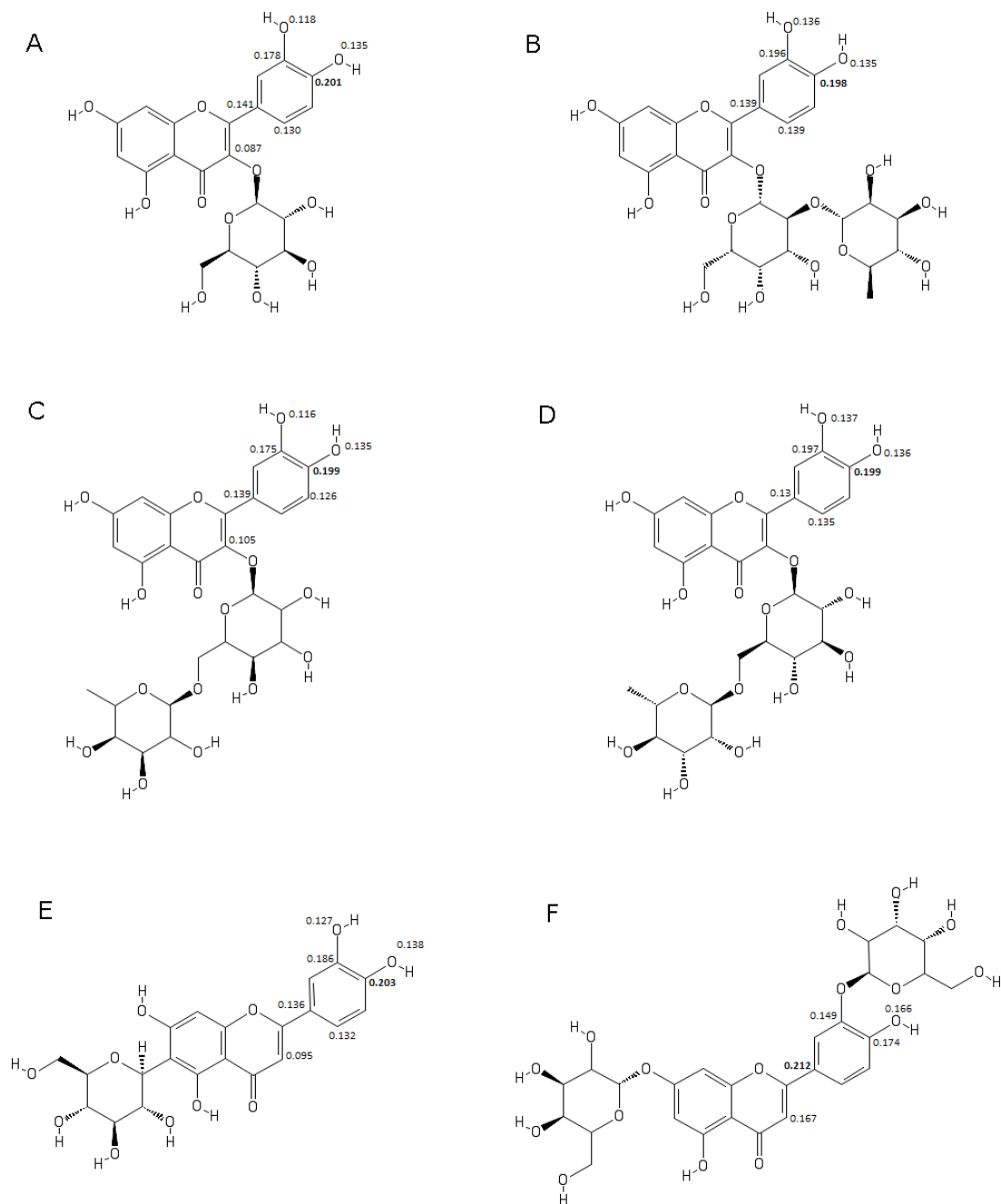


**Figura B.3:** Distribución de densidad de espín en las estructuras radicalarias neutras en fase acuosa. Flavonoides: A) Vitexina. B) Isovitexina. C) Daidzeina. D) Genisteina. E) Gliciteina. F) Trolox.

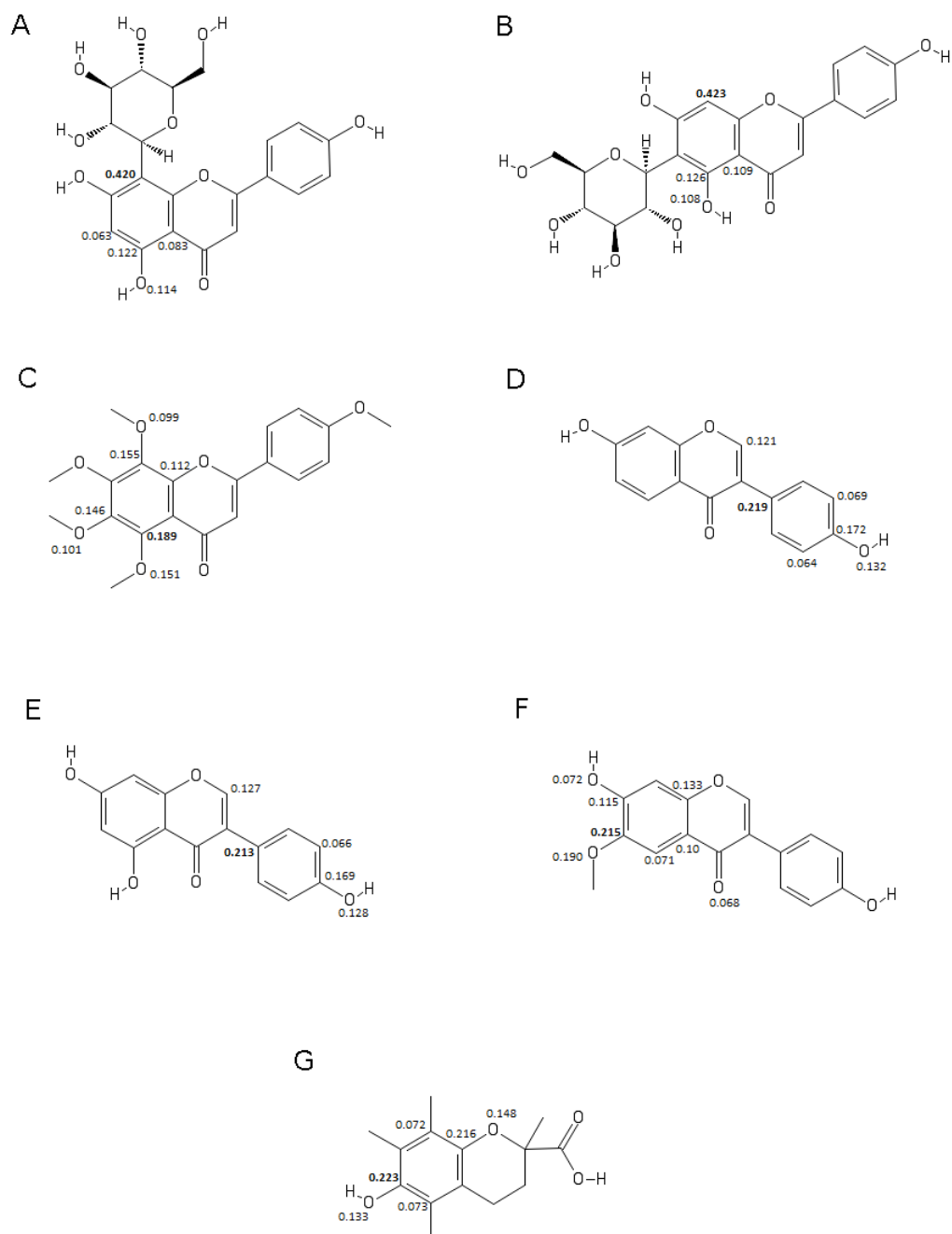
## B.2. Estructuras radicalarias catiónicas en solven- te



**Figura B.4:** Distribución de densidad de espín en las estructuras radicalarias catiónicas en fase acuosa. Flavonoides: A) Catequina. B) Epicatequina. C) Gallocatequina. D) Taxifolina. E) Kaempferol. F) Nicotiflorina. G) Robinetina. H) Quercetina.



**Figura B.5:** Distribución de densidad de espín en las estructuras radicalarias catiónicas en fase acuosa. Flavonoides: A) Isoquercetina. B) Quercetina 3-O-neohesperidósido. C) Quercetina 3-O-robinobiosido. D) Rutina. E) Homoorientina. F) Luteolina 7,3'-diglucósido.



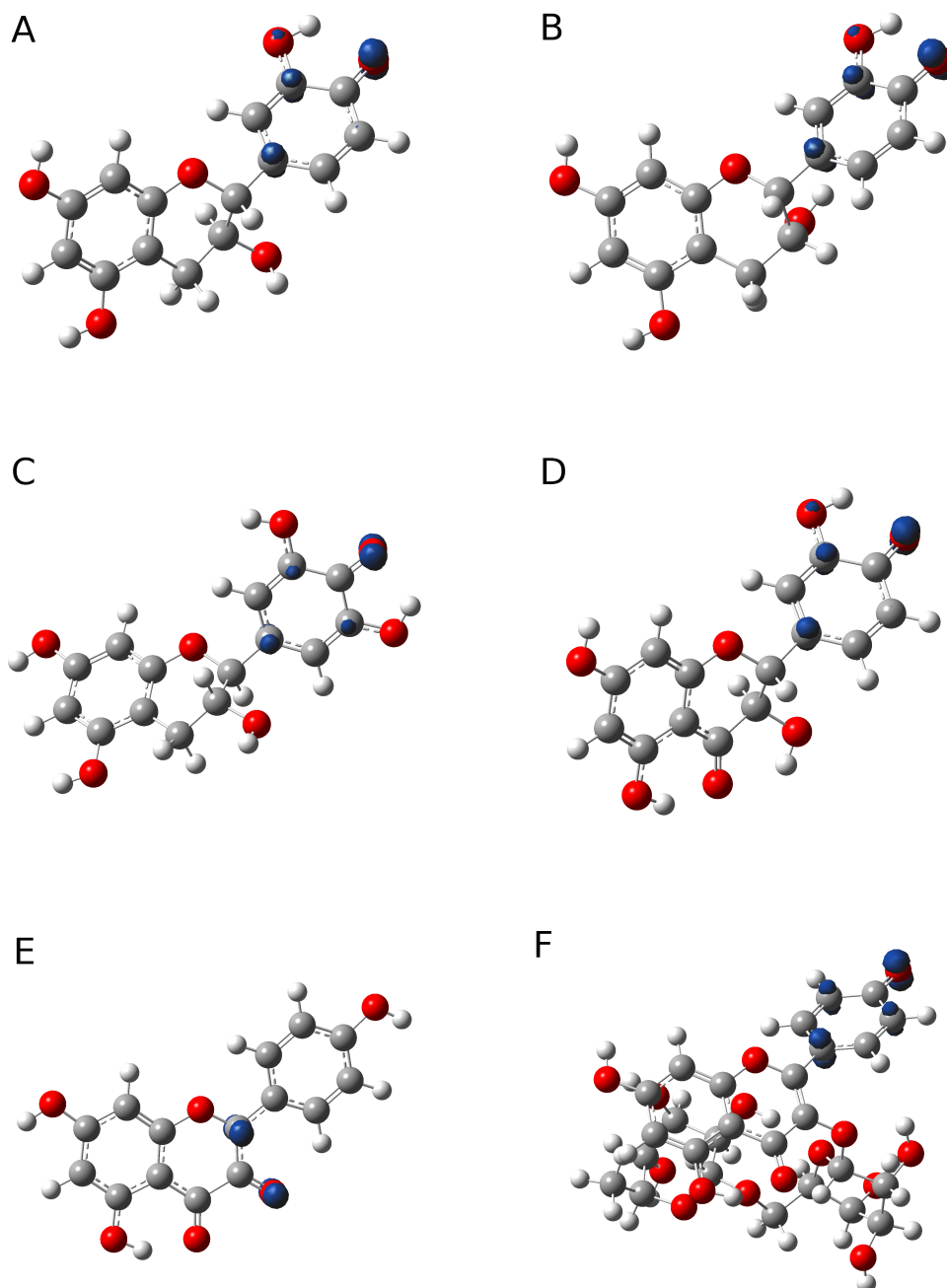
**Figura B.6:** Distribución de densidad de espín en las estructuras radicalarias catiónicas en fase acuosa. Flavonoides: A) Vitexina. B) Isovitexina. C) Tangeretina D) Daidzeina. E) Genisteina. F) Gliciteina. G) Trolox.

## Anexo C

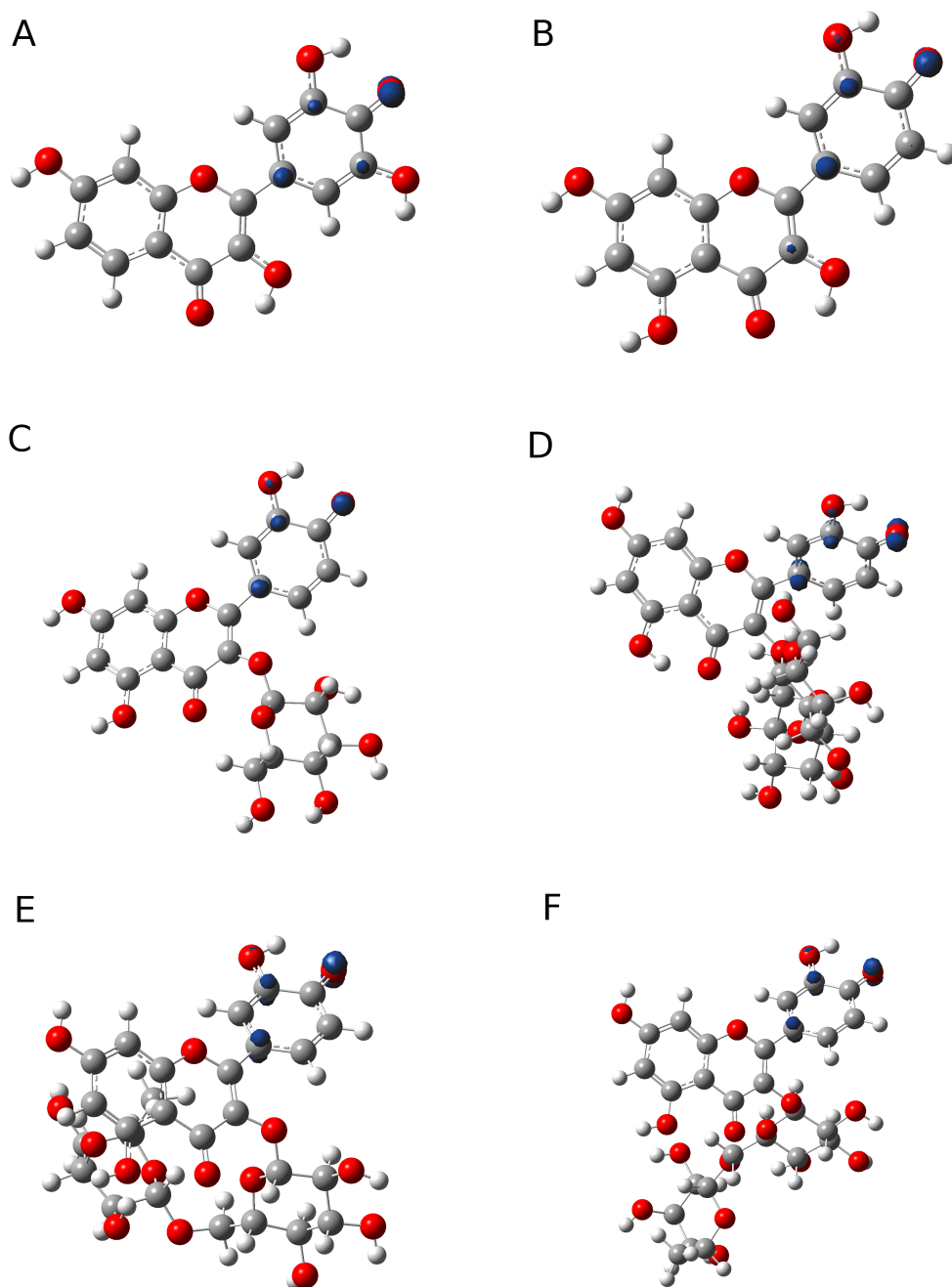
### Regiones con mayor densidad de espín



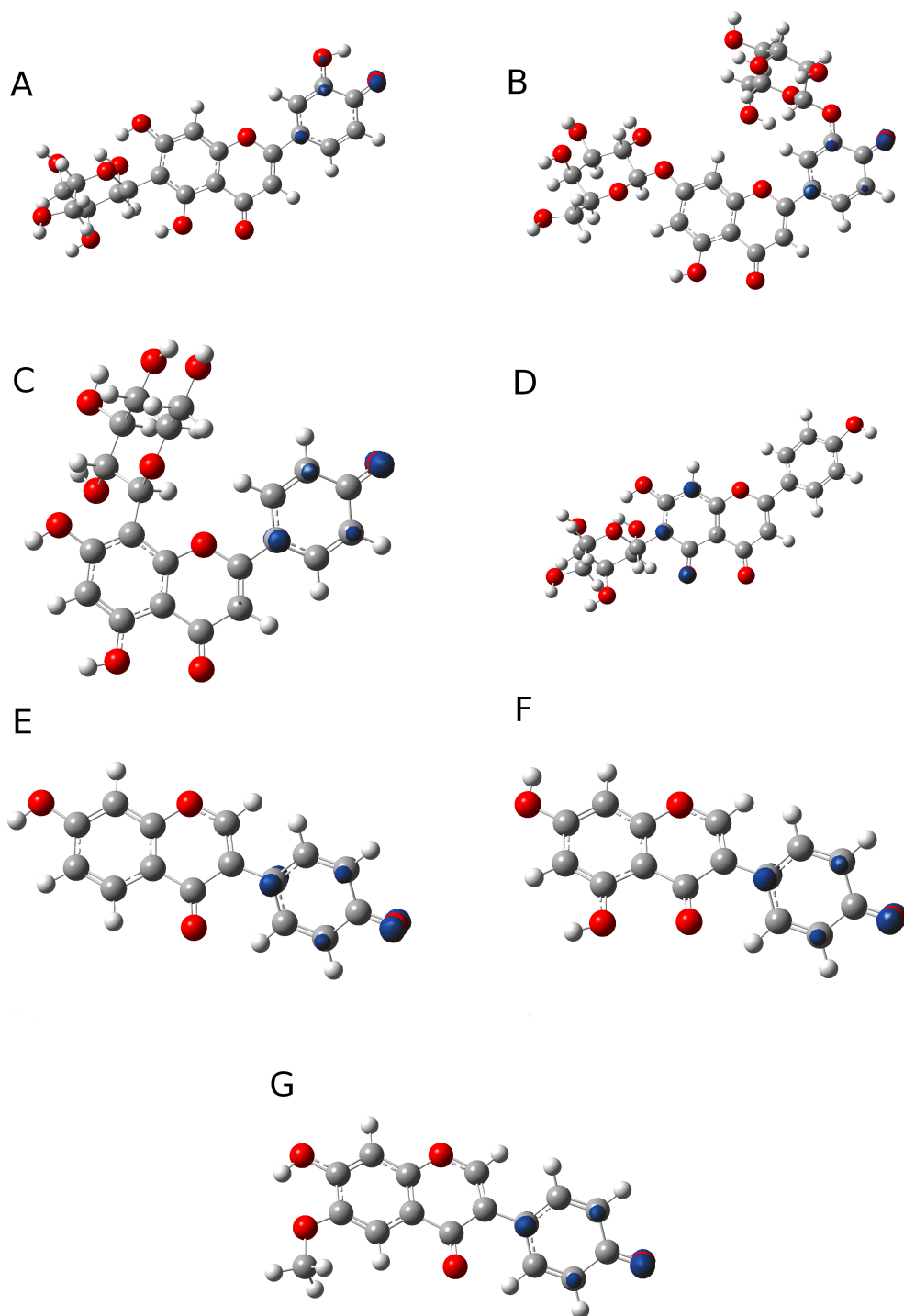
## C.1. Estructuras radicalarias neutras en fase gas



**Figura C.1:** Regiones con mayor densidad de espín en las estructuras radicalarias neutras en fase gas. Flavonoides: A) Catequina. B) Epicatequina. C) Galocatequina. D) Taxifolina. E) Kaempferol. F) Nicotiflorina.

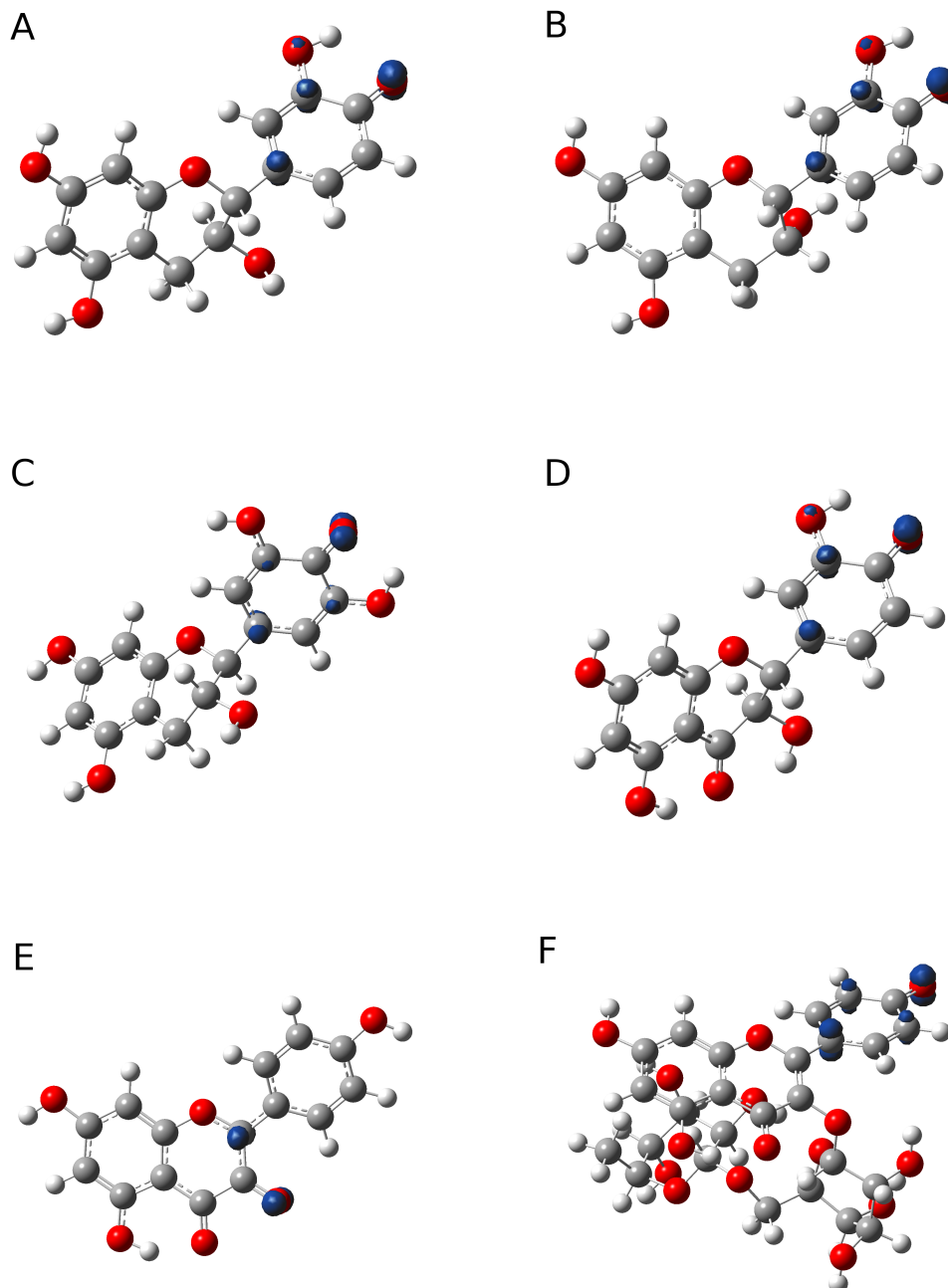


**Figura C.2:** Regiones con mayor densidad de espín en las estructuras radicalarias neutras en fase gas. Flavonoides: A) Robinetina. B) Quercetina. C) Isoquercetina. D) Quercetina 3-O-neohesperidósido. E) Quercetina 3-O-robinobiosido. F) Rutina.

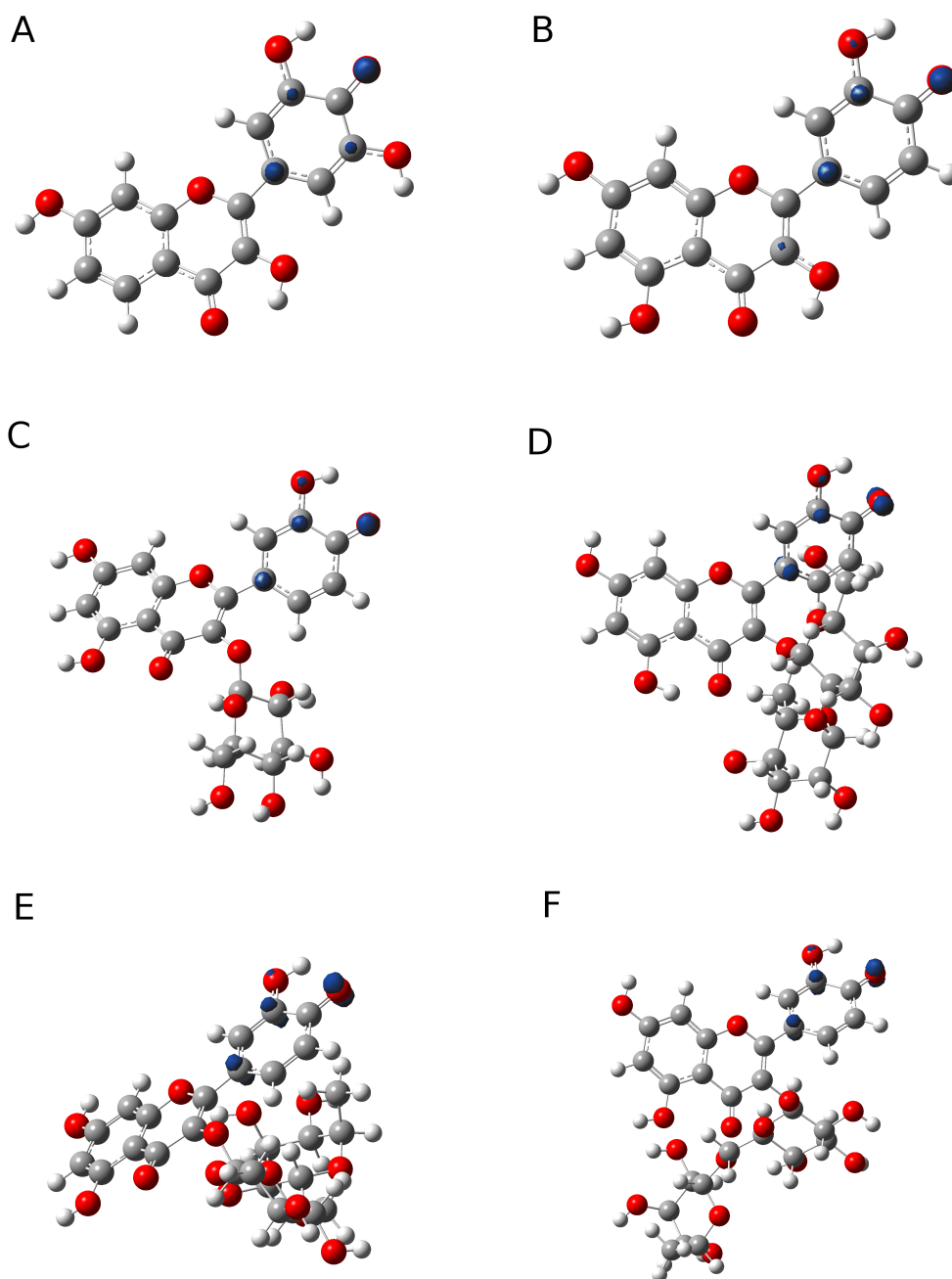


**Figura C.3:** Regiones con mayor densidad de espín en las estructuras radicalarias neutras en fase gas. Flavonoides: A) Homoorientina. B) Luteolina 7,3'-diglucósido. C) Vitexina. D) Isovitexina. E) Tangeretina. F) Daidzeina. G) Genisteina. H) Gliciteina.

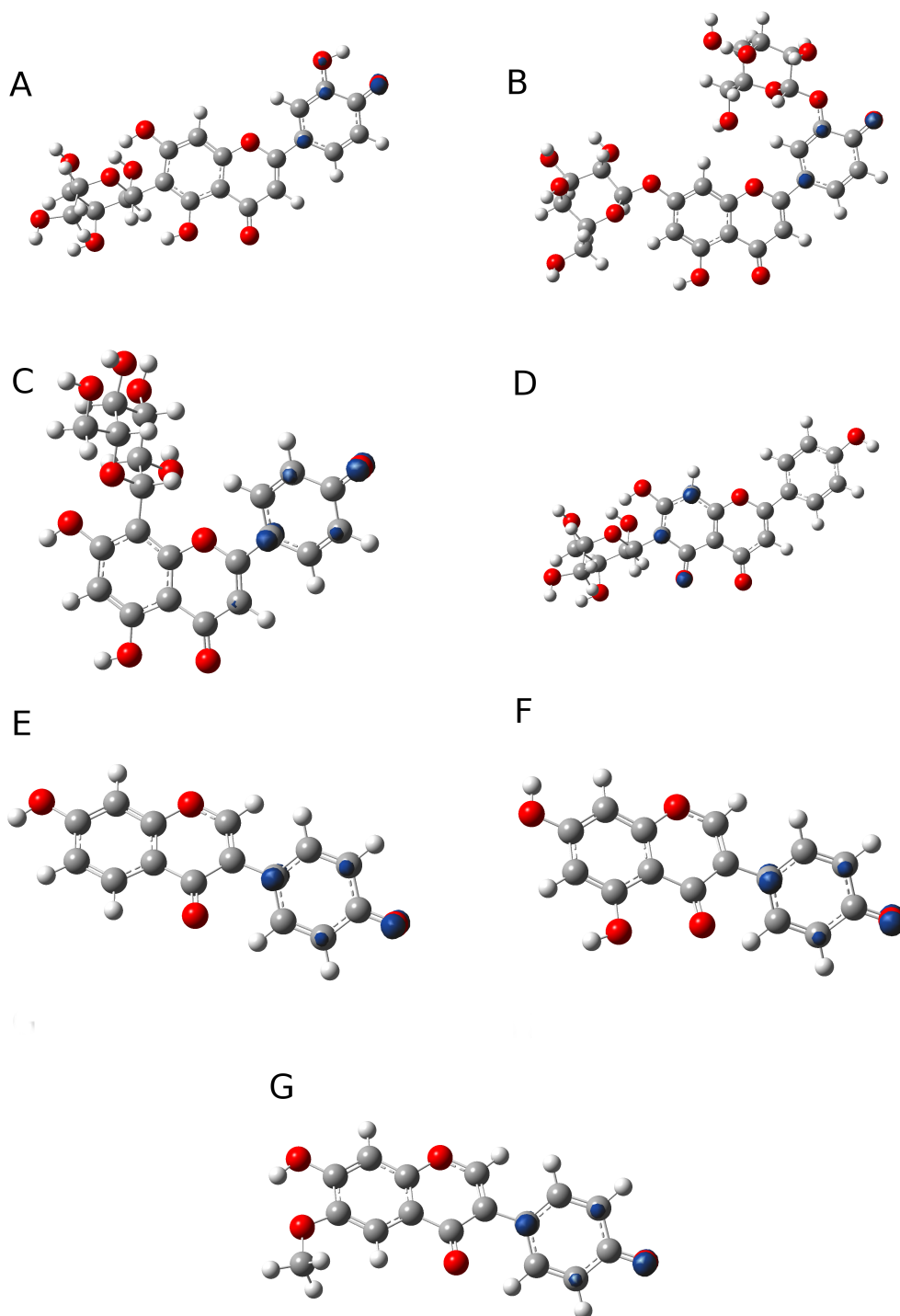
## C.2. Estructuras radicalarias neutras en fase acuosa



**Figura C.4:** Regiones con mayor densidad de espín en las estructuras radicalarias neutras en fase acuosa. Flavonoides: A) Catequina. B) Epicatequina. C) Galocatequina. D) Taxifolina. E) Kaempferol. F) Nicotiflorina.

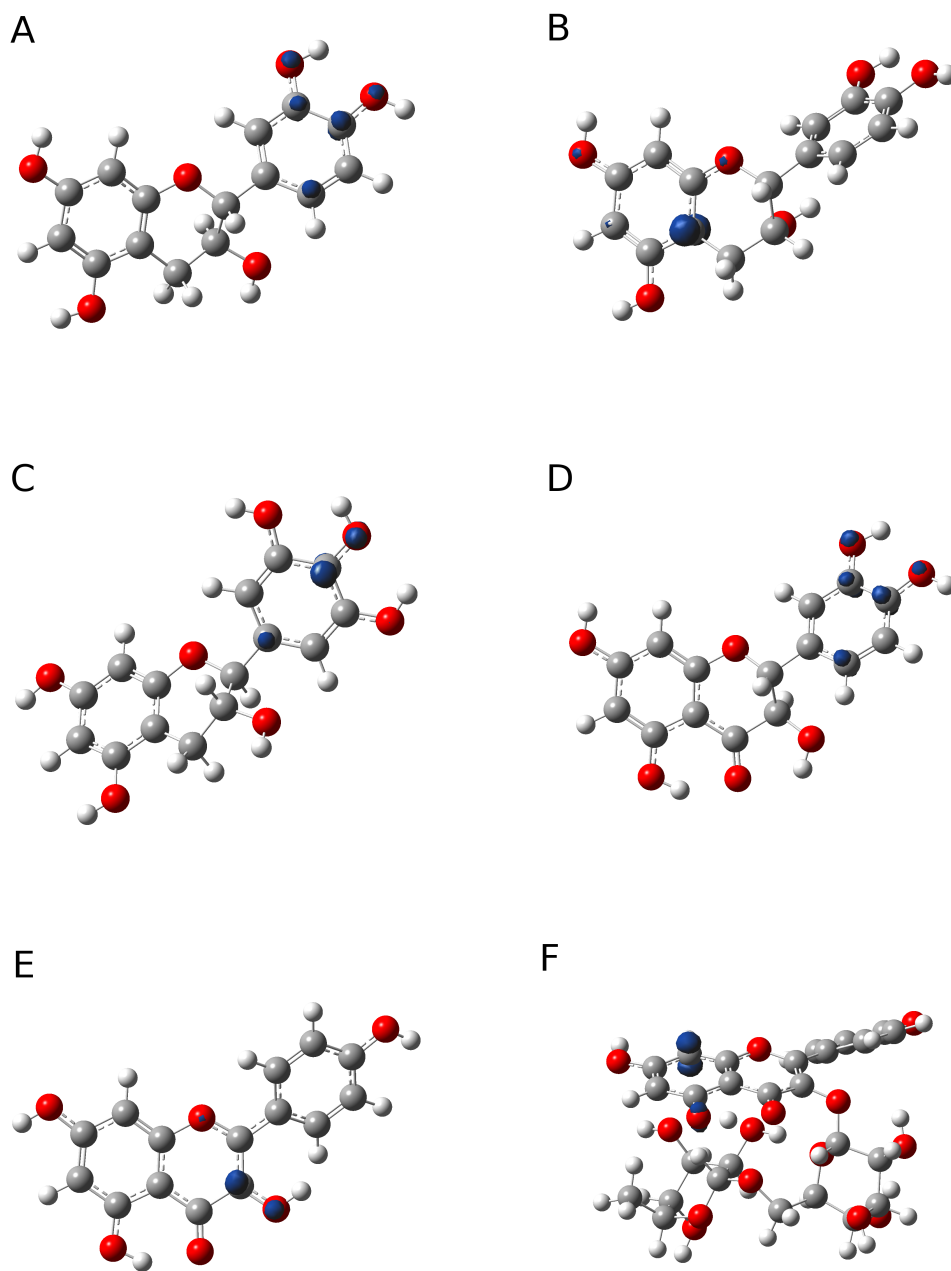


**Figura C.5:** Regiones con mayor densidad de espín en las estructuras radicalarias neutras en fase acuosa. Flavonoides: A) Robinetina. B) Quercetina. C) Isoquercetina. D) Quercetina 3-O-neohesperidósido. E) Quercetina 3-O-robinobiosido. F) Rutina.

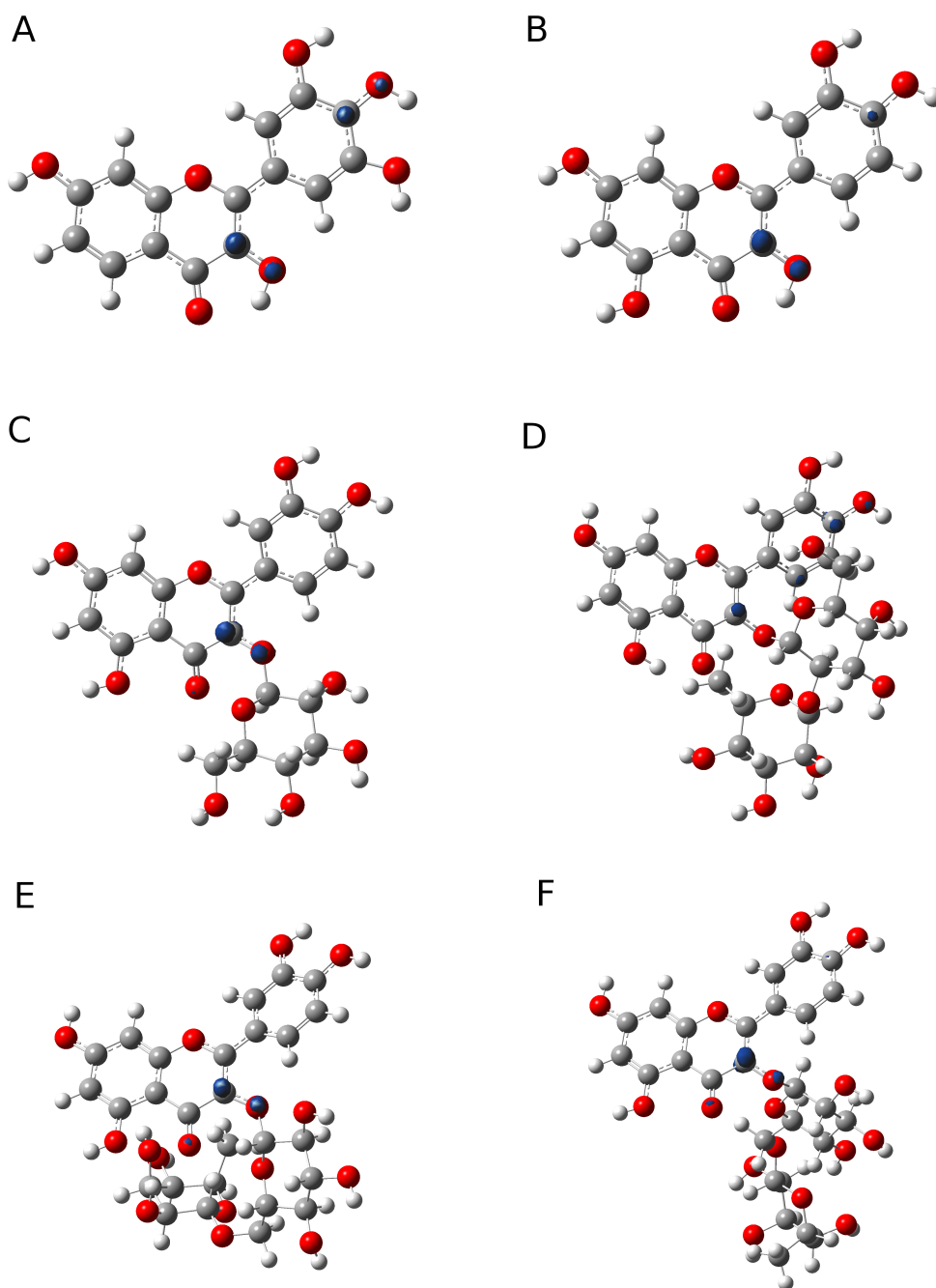


**Figura C.6:** Regiones con mayor densidad de espín en las estructuras radicalarias neutras en fase acuosa. Flavonoides: A) Homoorientina. B) Luteolina 7,3'-diglucósido. C) Vitexina. D) Isovitexina. E) Tangeretina. F) Daidzeina. G) Genisteina. H) Gliciteína.

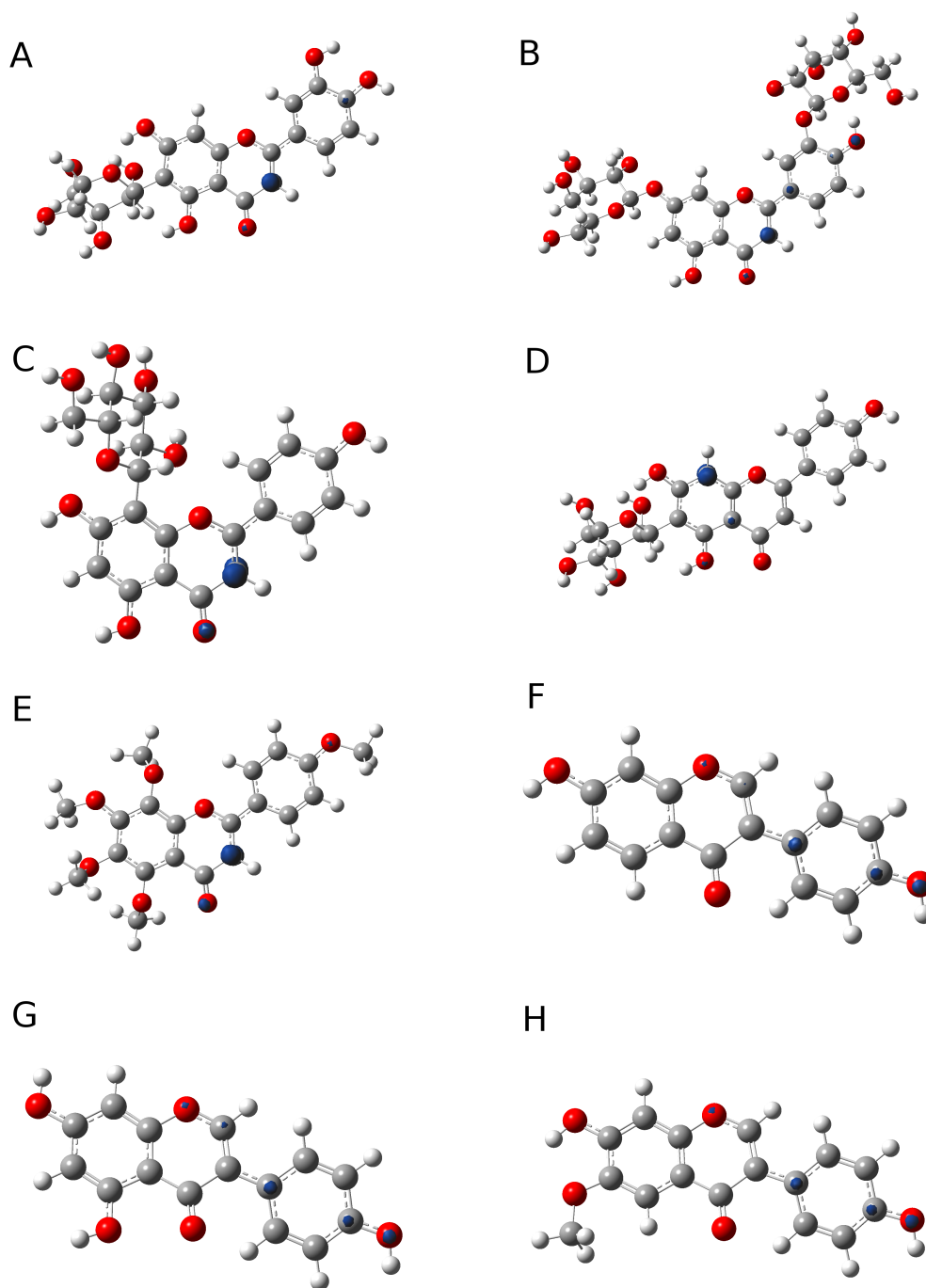
### C.3. Estructuras radicalarias catiónicas en fase gas



**Figura C.7:** Regiones con mayor densidad de espín en las estructuras radicalarias catiónicas en fase gas. Flavonoides: A) Catequina. B) Epicatequina. C) Galocatequina. D) Taxifolina. E) Kaempferol. F) Nicotiflorina.

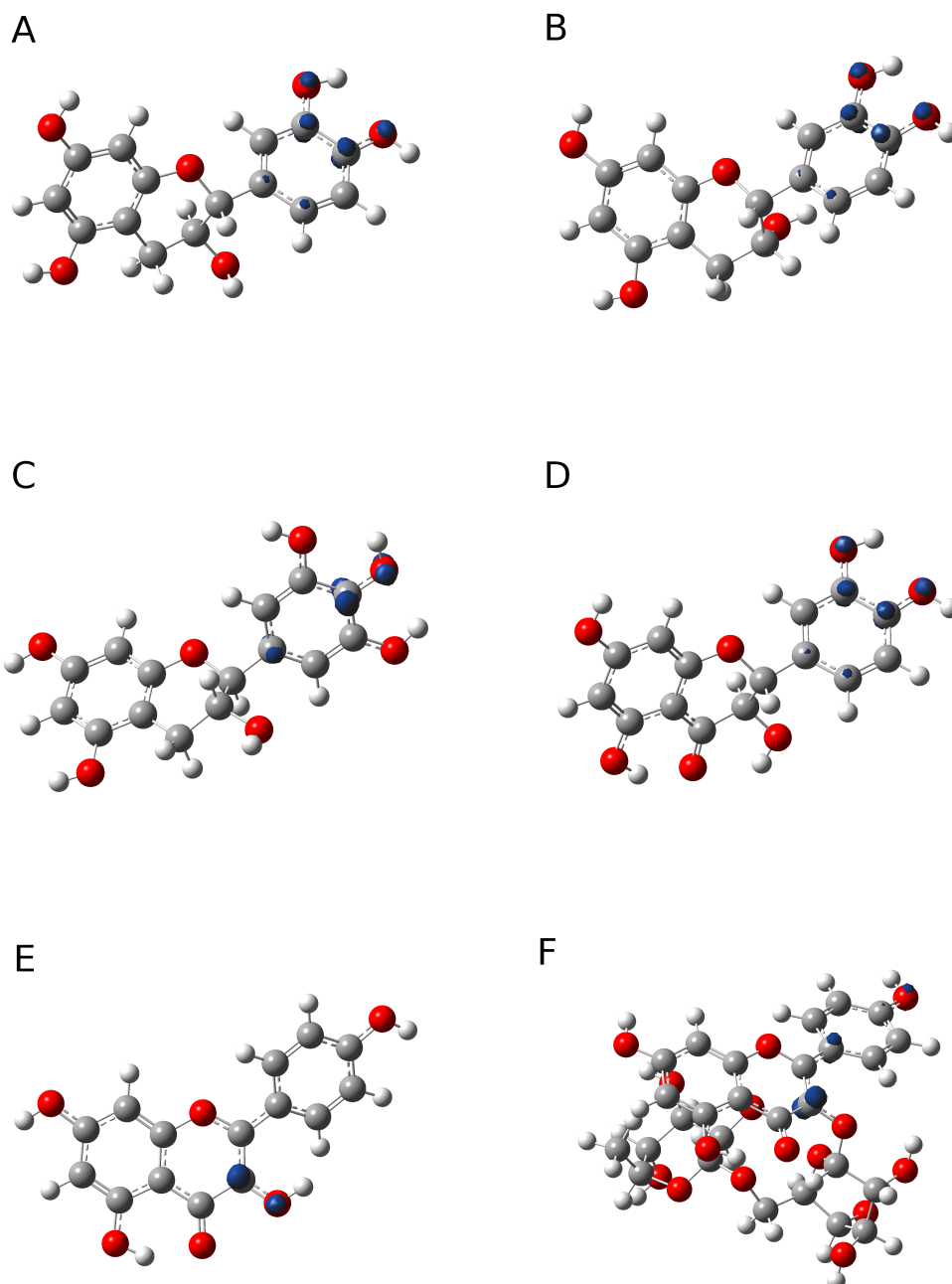


**Figura C.8:** Regiones con mayor densidad de espín en las estructuras radicalarias catiónicas en fase gas. Flavonoides: A) Robinetina. B) Quercetina. C) Isoquercetina. D) Quercetina 3-O-neohesperidósido. E) Quercetina 3-O-robinobiosido. F) Rutina.

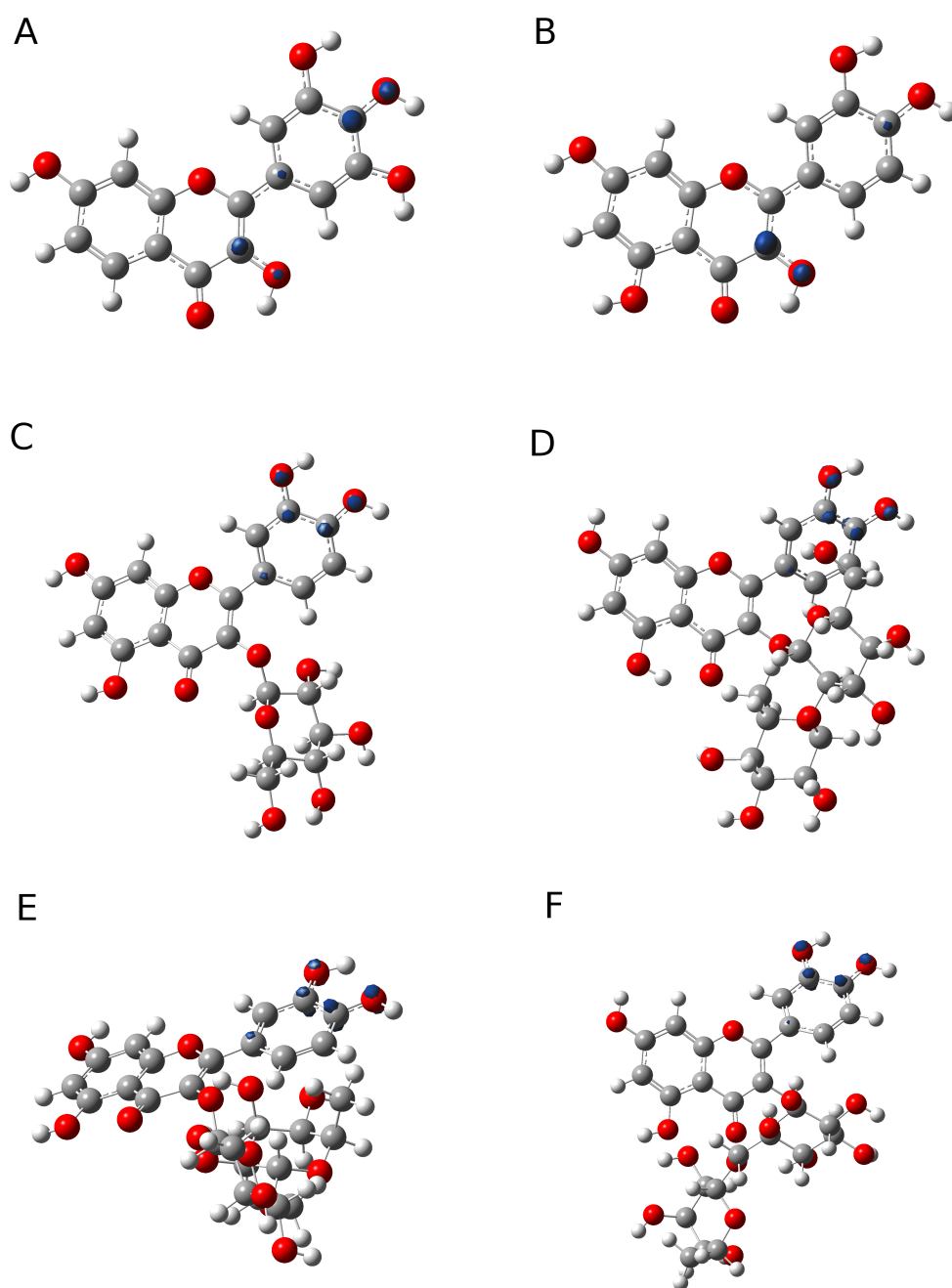


**Figura C.9:** Regiones con mayor densidad de espín en las estructuras radicalarias catiónicas en fase gas. Flavonoides: A) Homoorientina. B) Luteolina 7,3'-diglucósido. C) Vitexina. D) Isovitexina. E) Tangeretina. F) Daidzeina. G) Genisteina. H) Gliciteina.

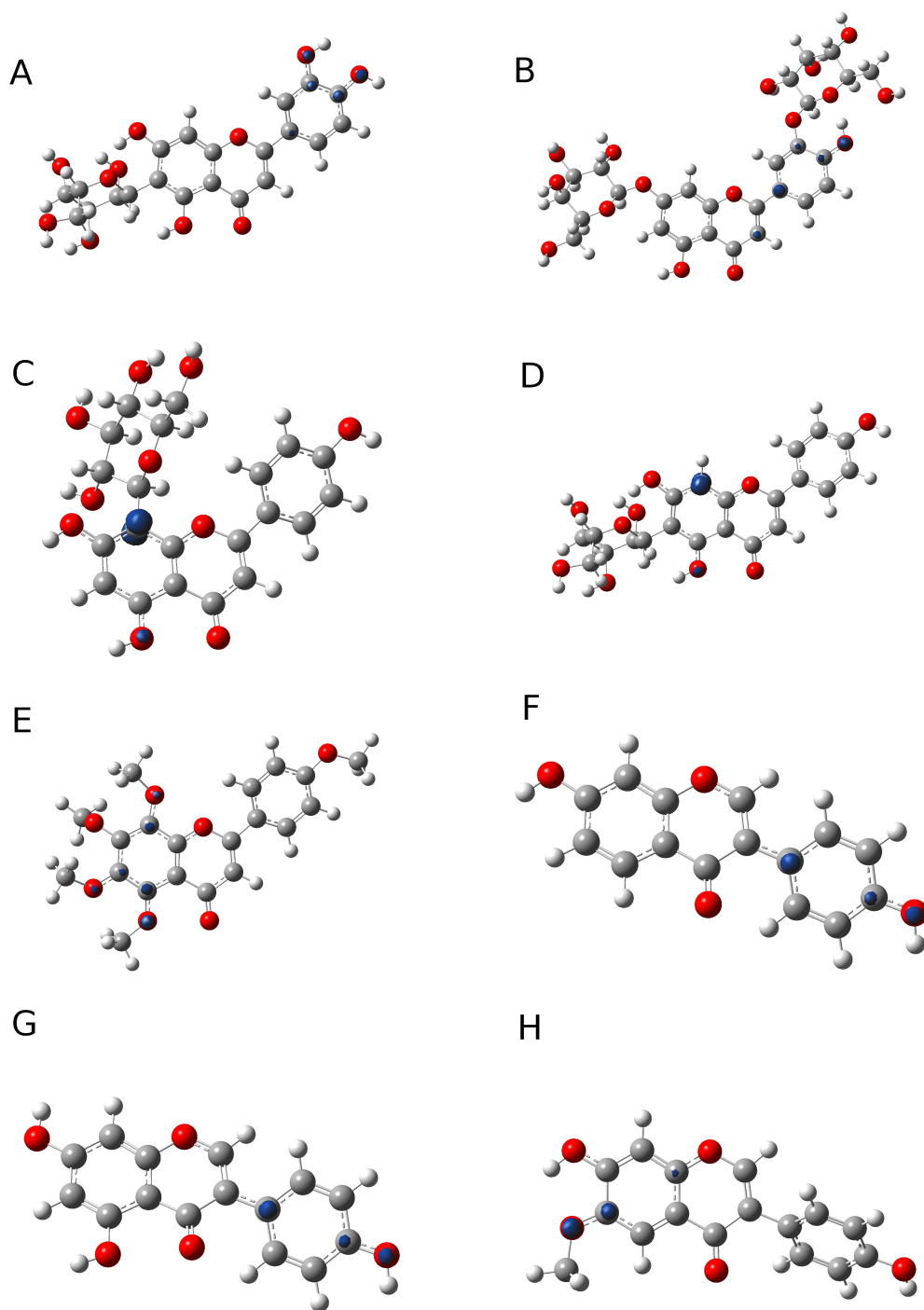
## C.4. Estructuras radicalarias catiónicas en solven- te



**Figura C.10:** Regiones con mayor densidad de espín en las estructuras radicalarias catiónicas en fase acuosa. Flavonoides: A) Catequina. B) Epicatequina. C) Galocatequina. D) Taxifolina. E) Kaempferol. F) Nicotiflorina.

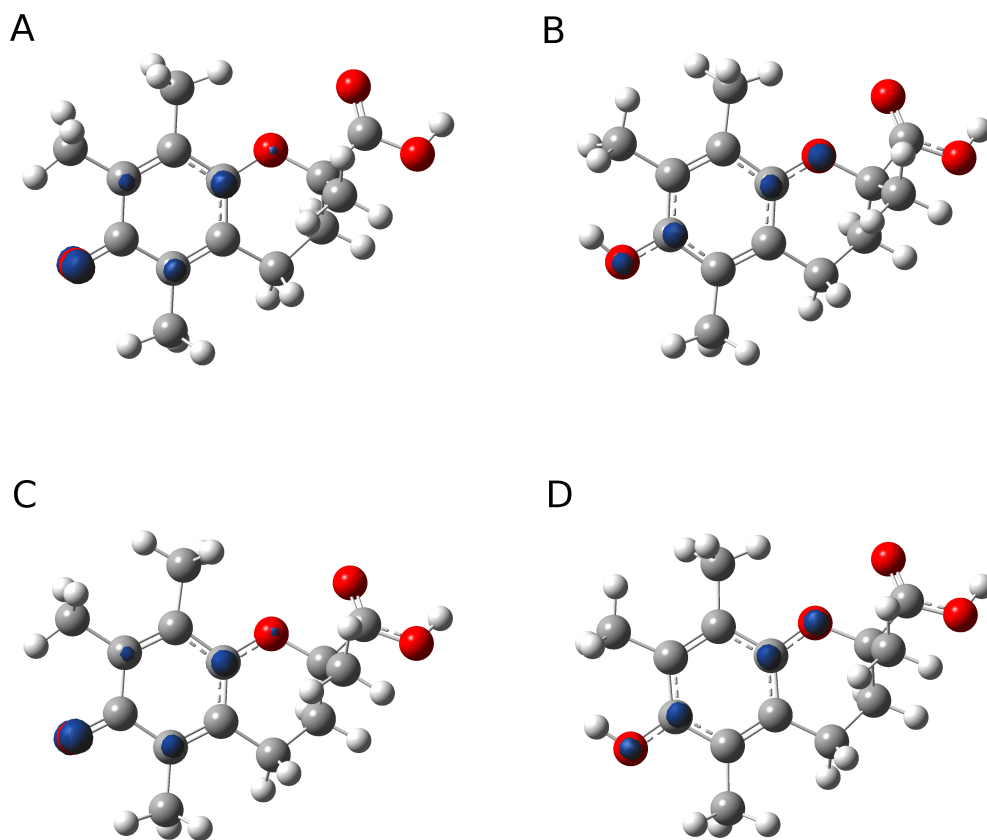


**Figura C.11:** Regiones con mayor densidad de espín en las estructuras radicalarias catiónicas en fase acuosa. Flavonoides: A) Robinetina. B) Quercetina. C) Isoquercetina. D) Quercetina 3-O-neohesperidósido. E) Quercetina 3-O-robinobiosido. F) Rutina.



**Figura C.12:** Regiones con mayor densidad de espín en las estructuras radicalarias catiónicas en fase acuosa. Flavonoides: A) Homoorientina. B) Luteolina 7,3'-diglucósido. C) Vitexina. D) Isovitexina. E) Tangeretina. F) Daidzeina. G) Genisteina. H) Gliciteína.

## C.5. Estructuras radicalarias del Trolox



**Figura C.13:** Regiones con mayor densidad de espín en las estructuras radicalarias del Trolox. A) Radical neutro en fase gas. B) Radical catiónico en fase gas. C) Radical neutro en fase acuosa. D) Radical catiónico en fase acuosa.

## Anexo D

### Tablas adicionales

**Tabla D.1:** Entalpías totales (H) de las estructuras iniciales, aniónicas, radicalarias catiónicas y radicalarias aniónicas optimizadas en fase gas con wB97XD/TZVP

Flavonoide	H			
	Inicial	Radical catión	Radical anión	Anión
Catequina	-1031.0920	-1030.8171	-1031.0735	-1030.5672
Epicatequina	-1031.0947	-1030.8241	-1031.0707	-1030.5639
Gallocatequina	-1106.3154	-1106.0428	-1106.2748	-1105.7798
Taxifolina	-1105.1451	-1104.8603	-1105.1687	-1104.6149
Kaempferol	-1028.7245	-1028.4457	-1028.7540	-1028.1970
Nicotiflorina	-2174.7322	-2174.4584	-2174.7839	-2174.2226
Robinetina	-1103.9496	-1103.6831	-1103.9796	-1103.4198
Quercetina	-1103.9407	-1103.6797	-1103.9612	-1103.4160
Isoquercetina	-1714.5374	-1714.2819	-1714.5575	-1714.0118
Quer. 3-O-neo.	-2249.9711	-2249.6927	-2250.0277	-2249.4616
Quer. 3-O-rob.	-2249.9405	-2249.6831	-2250.0059	-2249.4216
Rutina	-2249.9279	-2249.6694	-2249.9435	-2249.4024
Homoorientina	-1639.3252	-1639.0543	-1639.3836	-1638.8013
Lut. 7,3'-di-O-g.	-2249.9288	-2249.6682	-2249.9528	-2249.4025
Vitexina	-1564.1048	-1563.8281	-1564.1279	-1563.5872
Isovitexina	-1564.1011	-1563.8283	-1564.1590	-1563.5701
Tangeretina	-1300.2568	-1299.9780	-1300.2810	-
Daidzeina	-878.2693	-877.9933	-878.2821	-877.7201
Genisteina	-953.4849	-953.2120	-953.4898	-952.9335
Gliciteina	-992.7647	-992.4910	-992.7749	-992.2145
Trolox	-844.9600	-844.7069	-844.9178	-844.4032

**Tabla D.2:** Entalpías totales (H) de las estructuras iniciales, aniónicas, radicalarias catiónicas y radicalarias aniónicas optimizadas en fase acuosa con wB97XD/TZVP

Flavonoide	H			
	Inicial	Radical catión	Radical anión	Anión
Catequina	-1031.1363	-1030.9283	-1031.1766	-1030.6756
Epicatequina	-1031.1370	-1030.9296	-1031.1799	-1030.6762
Gallocatequina	-1106.3636	-1106.1559	-1106.4564	-1105.9020
Taxifolina	-1105.1822	-1104.9722	-1105.2754	-1104.7226
Kaempferol	-1028.7604	-1028.5479	-1028.8548	-1028.3015
Nicotiflorina	-2174.8122	-2174.5919	-2174.9093	-2174.3508
Robinetina	-1103.9844	-1103.7797	-1104.0810	-1103.5271
Quercetina	-1103.9840	-1103.7809	-1104.0770	-1103.5270
Isoquercetina	-1714.6104	-1714.4007	-1714.7052	-1714.1570
Quer. 3-O-neo.	-2250.0521	-2249.8392	-2250.1484	-2249.5958
Quer. 3-O-rob.	-2250.0399	-2249.8285	-2250.1359	-2249.5840
Rutina	-2250.0282	-2249.8155	-2250.1206	-2249.5715
Homoorientina	-1639.3990	-1639.1874	-1639.4905	-1638.9432
Lut. 7,3'-di-O-g.	-2250.0268	-2249.8093	-2250.1201	-2249.5650
Vitexina	-1564.1754	-1563.9493	-1564.2663	-1563.7160
Isovitexina	-1564.1710	-1563.9488	-1564.2613	-1563.7184
Tangeretina	-1300.2790	-1300.0717	-1300.3736	-
Daidzeina	-878.2980	-878.0860	-878.3849	-877.8317
Genisteina	-953.5246	-953.3135	-953.6070	-953.0583
Gliciteina	-992.7899	-992.5736	-992.8756	-992.3235
Trolox	-844.9824	-844.7935	-845.0105	-844.5099

**Tabla D.3:** Entalpías totales (H) de las estructuras radicalarias neutras optimizadas en fase gas y fase acuosa con con wB97XD/TZVP

Flavonoide	H		Flavonoide	H	
	Gas	Acuosa		Gas	Acuosa
Catequina			Epicatequina		
3-OH	-1030.4308	-1030.4697	3-OH	-1030.4293	-1030.4698
5-OH	-1030.4582	-1030.5027	5-OH	-1030.4614	-1030.4655
7-OH	-1030.4574	-1030.5029	7-OH	-1030.4615	-1030.5037
3'-OH	-1030.4573	-1030.5070	3'-OH	-1030.4591	-1030.5085
4'-OH	-1030.4721	-1030.5111	4'-OH	-1030.4740	-1030.5127
Gallocatequina			Taxifolina		
3-OH	-1105.6543	-1105.6780	3-OH	-1104.4750	-1104.5025
5-OH	-1105.6848	-1105.6928	5-OH	-1104.4877	-1104.5357
7-OH	-1105.6824	-1105.6906	7-OH	-1104.4763	-1104.5188
3'-OH	-1105.6931	-1105.7359	3'-OH	-1104.5101	-1104.5525
4'-OH	-1105.6942	-1105.7428	4'-OH	-1104.5241	-1104.5561
5'-OH	-1105.6806	-1105.7345			
Kaempferol			Nicotiflorina		
3-OH	-1028.1055	-1028.1383	5-OH	-2174.0717	-2174.1645
5-OH	-1028.0646	-1028.1148	7-OH	-2174.0926	-2174.1666
7-OH	-1028.0551	-1028.1158	4'-OH	-2174.0966	-2174.1736
4'-OH	-1028.0886	-1028.1229			
Robinetina			Quercetina		
3-OH	-1103.3182	-1103.3578	3-OH	-1103.3077	-1103.3587
7-OH	-1103.3092	-1103.3410	5-OH	-1103.3048	-1103.3477
3'-OH	-1103.3130	-1103.3529	7-OH	-1103.3006	-1103.3400
4'-OH	-1103.3288	-1103.3638	3'-OH	-1103.3054	-1103.3535
5'-OH	-1103.3243	-1103.3557	4'-OH	-1103.3230	-1103.3601
Isoquercetina			Quer. 3-O-neo.		
5-OH	-1713.9017	-1713.9728	5-OH	-2249.3098	-2249.4040
7-OH	-1713.8978	-1713.9651	7-OH	-2249.3270	-2249.4056
3'-OH	-1713.9036	-1713.9800	3'-OH	-2249.3345	-2249.4206
4'-OH	-1713.9186	-1713.9844	4'-OH	-2249.3486	-2249.4246
Quer. 3-O-rob.			Rutina		
5-OH	-2249.3004	-2249.4009	5-OH	-2249.2885	-2249.3894
7-OH	-2249.2995	-2249.3942	7-OH	-2249.2878	-2249.3826
3'-OH	-2249.3057	-2249.4084	3'-OH	-2249.2937	-2249.3968
4'-OH	-2249.3210	-2249.4134	4'-OH	-2249.3079	-2249.4007
Homoorientina			Lut. 7,3'-di-o-g.		
5-OH	-1638.6957	-1638.7666	5-OH	-2249.2929	-2249.3887
7-OH	-1638.6776	-1638.7477	4'-OH	-2249.2986	-2249.3962
3'-OH	-1638.6893	-1638.7678			
4'-OH	-1638.7057	-1638.7732			
Vitexina			Isovitexina		
5-OH	-1563.4666	-1563.5356	5-OH	-1563.4716	-1563.5383
7-OH	-1563.4666	-1563.5301	7-OH	-1563.4539	-1563.5197
4'-OH	-1563.4705	-1563.5399	4'-OH	-1563.4675	-1563.5342
Daidzeina			Genisteina		
7-OH	-877.6292	-877.6536	5-OH	-952.8440	-952.8860
4'-OH	-877.6364	-877.6640	7-OH	-952.8431	-952.8790
			4'-OH	-952.8521	-952.8911
Gliciteina			Trolox		
7-OH	-992.1247	-992.1535	1-OH	-844.2915	-844.3514
4'-OH	-992.1320	-992.1560	6-OH	-844.3403	-844.3635

**Tabla D.4:** Entalpías totales (H) de F y Na con wB97XD/TZVP

Molécula	H, fase gas			H, fase acuosa		
	Inicial	Radical catión	Radical anión	Inicial	Radical catión	Radical anión
F	-99,739072	-	-99,843103	-99,73698	-	-99,98843
Na	-162,260811	-162,079422	-	-162,261942	-162,194504	-

**Tabla D.5:** *RIE* y *REA* calculados con los valores de F y Na como acceptor y donador de electrones de referencia

Flavonoide	Gas		Acuosa	
	<i>REA</i>	<i>RIE</i>	<i>REA</i>	<i>RIE</i>
Catequina	-0.1779	1.3380	0.1601	1.8852
Epicatequina	-0.2307	1.3226	0.1705	1.8816
Gallocatequina	-0.3909	1.3298	0.3691	1.8833
Taxifolina	0.2268	1.3739	0.3706	1.8982
Kaempferol	0.2834	1.3521	0.3755	1.9137
Nicotiflorina	0.4969	1.3343	0.3862	1.9627
Robinetina	0.2880	1.3076	0.3841	1.8645
Quercetina	0.1969	1.2881	0.3698	1.8550
Isoquercetina	0.1925	1.2682	0.3772	1.8957
Quer. 3-O-neo.	0.5434	1.3507	0.3830	1.9164
Quer. 3-O-rob.	0.6289	1.2747	0.3818	1.9064
Rutina	0.1493	1.2788	0.3673	1.9150
Homoorientina	0.5615	1.3237	0.3639	1.9084
Lut. 7,3'-di-O-g.	0.2311	1.2860	0.3712	1.9449
Vitexina	0.2213	1.3449	0.3616	1.9991
Isovitexina	0.5565	1.3306	0.3589	1.9747
Tangeretina	0.2321	1.3523	0.3765	1.8803
Daidzeina	0.1226	1.3419	0.3456	1.9107
Genisteina	0.0477	1.3306	0.3276	1.9052
Gliciteina	0.0985	1.3334	0.3407	1.9379
Trolox	-0.4059	1.2592	0.1118	1.7643
F	1.0000	-	1.0000	-
Na	-	1.0000	-	1.0000