



---

**Universidad de Valladolid**

Facultad de Ciencias

## **TRABAJO FIN DE GRADO**

Grado en Química

**Estudio computacional de la capacidad antioxidante de la  
serotonina**

*Autor: Alba María Plaza Faulín*

*Tutor: Antonio Largo Cabrerizo*



## ÍNDICE

<b>1 - Resumen</b> .....	5
<b>2 - Introducción</b> .....	7
<b>3 - Objetivos y Plan de Trabajo</b> .....	13
<b>4 - Metodología</b> .....	15
<b>4.1 - La ecuación de Schrödinger y la aproximación de Born-Oppenheimer</b> .....	16
<b>4.2 - La superficie de energía potencial (SEP)</b> .....	17
<b>4.3 - La optimización</b> .....	21
<b>4.4 - Las funciones base</b> .....	23
<b>4.5 - Métodos de la Química Cuántica</b> .....	27
<b>4.6 - La simulación del disolvente: el modelo SMD</b> .....	31
<b>5 - Resultados</b> .....	33
<b>5.1 - Análisis a nivel semiempírico: AM1 y PM3</b> .....	34
<b>5.2 - Re-optimización mediante Gaussian en vacío</b> .....	40
<b>5.3 - Re-optimización mediante Gaussian en solución</b> .....	54
<b>5.4 - Análisis poblacional Maxwell-Boltzmann</b> .....	62
<b>5.5 - Estudio de los mecanismos antioxidantes</b> .....	65
<b>5.5.1- Mecanismos antioxidantes sobre el radical hidroxilo</b> .....	67
<b>5.5.2- Mecanismos antioxidantes sobre el radical hidroperoxilo</b> .....	78
<b>5.5.3- Comparativa de los radicales hidroxilo e hidroperoxilo</b> .....	90
<b>6 - Conclusiones</b> .....	92
<b>7 - Bibliografía</b> .....	95
<b>8 - Listado de figuras, ecuaciones y tablas</b> .....	98



## 1 - Resumen

En el presente trabajo se estudia la actividad antioxidante de la serotonina, molécula de elevado interés biológico, mediante cálculos computacionales.

En primer lugar, se realiza un análisis conformacional de las posibles estructuras de la serotonina en vacío y solución dando lugar a 24 conformaciones diferentes, las cuales se optimizan mediante dos métodos semi-empíricos, AM1 y PM3, y posteriormente se re-optimizan mediante la Teoría del Funcional de la Densidad (DFT) utilizando la base 6-311++G(d,p) y el funcional M05-2X.

Finalmente, se selecciona aquella estructura más estable y, por consiguiente, más probable de existir en el medio biológico y, por comparación con la triptamina, se estudia en aquellos sitios más susceptibles de dar lugar a los mecanismos antioxidantes.

### **Abstract**

In the present work, the antioxidant activity of serotonin, a molecule of high biological interest, is studied through computational calculations.

Firstly, a conformational analysis of the possible structures of serotonin in vacuum and solution is carried out, giving rise to 24 different conformations, which are optimized by means of two semi-empirical methods, AM1 and PM3, and subsequently re-optimized by Density Functional Theory (DFT) using the 6-311++G(d,p) basis set and the M05-2X functional.

Finally, the most stable and, therefore, the most probable structure to exist in the biological environment is selected and, in comparison with tryptamine, it is studied in those sites more susceptible to give rise to the antioxidant mechanisms.



## 2 - Introducción

Debido a que el oxígeno es una molécula altamente reactiva, pero necesaria para la gran mayoría de los seres vivos, los organismos han desarrollado una compleja red de metabolitos y enzimas antioxidantes que cooperan para prevenir el daño producido por las especies reactivas del oxígeno, como son el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) o los radicales libres hidroxilo ( $\cdot OH$ ) y superóxido ( $O_2\cdot$ ). Las reacciones de oxidación, es decir, de transferencia de electrones de una sustancia a un agente oxidante, producen radicales libres, especies con electrones desapareados, que comienzan reacciones en cadena que dañan las células dando lugar al envejecimiento y a otras muchas enfermedades. Aquí entra en juego el papel de un antioxidante, molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas, eliminando los radicales libres e inhibiendo su formación<sup>[1][2]</sup>. Actualmente se considera que existen tres tipos de compuestos antioxidantes<sup>[3][4]</sup>: inhibidores de enzimas, quelantes de metales y captadores de radicales libres. Los dos primeros impiden la formación de radicales libres indirectamente, mientras que los últimos atrapan a los radicales directamente y se conocen como antioxidantes inhibidores de la cadena de propagación radicalaria. En el presente trabajo se estudia como antioxidante a la serotonina.

La serotonina (5-hidroxitriptamina) es un derivado del aminoácido triptófano y un importante neurotransmisor y hormona que se encarga de regular la actividad neuronal, algunos procesos neuropsicológicos y tiene efectos vasculares, tanto de vasoconstricción como de vasodilatador. Entre sus funciones destaca la regulación del estrés, el humor, el sueño, el dolor, la ira, la temperatura corporal o la presión arterial. Debido a esto, la serotonina ha ganado especial interés y se han desarrollado varios fármacos utilizados en medicina para tratamientos de enfermedades como la esquizofrenia o la depresión. El estudio de su estructura nos proveerá de un mejor conocimiento sobre la interacción de este neurotransmisor con sus receptores específicos y, por tanto, una mejor comprensión de sus funciones<sup>[5]</sup>.

La conformación preferida de una molécula es determinada por sus interacciones intramoleculares, así como por las interacciones con el medio en el que se encuentren, en este caso se tomará como medio el agua como aproximación al medio fisiológico. A pH fisiológico la serotonina toma su forma protonada, sin embargo, muchos de los sitios

receptores de la serotonina son apolares, por lo que el grupo  $\text{NH}_2$  de la serotonina debe encontrarse en su forma neutra en vez de protonada y, además, el proceso de protonación es reversible. Debido a esto, este estudio se realiza sobre la estructura neutra de la serotonina<sup>[5]</sup>.

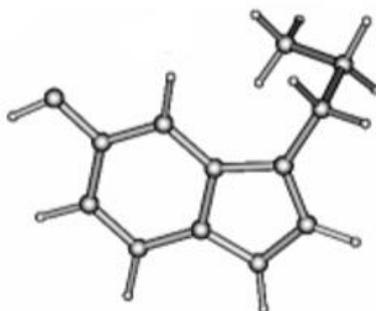


Figura 1. Serotonina en su forma protonada.

Siguiendo el trabajo de Wilkie et al.<sup>[6]</sup>, que sigue la nomenclatura de Carney y Zwier<sup>[7]</sup>, mostrada gráficamente a continuación, se tiene que considerando la cadena aminoetil perpendicular al plano aromático tiene 3 posibles posiciones el grupo  $\text{NH}_2$ : hacia la izquierda del anillo pirrólico (**Gpy**), hacia la izquierda del anillo fenólico (**Gph**) o apuntando en dirección contraria de los anillos (**Anti**). Para ambas conformaciones Gpy y Gph el par electrónico libre del grupo  $\text{NH}_2$  puede apuntar *up* (hacia arriba), *out* (hacia afuera) o *in* (hacia adentro). Para las formas Anti el par electrónico puede apuntar *up* (hacia arriba) o hacia cualquiera de los dos anillos, en este caso sería *ph* cuando apunta hacia el anillo fenólico y *py* hacia el anillo pirrólico.

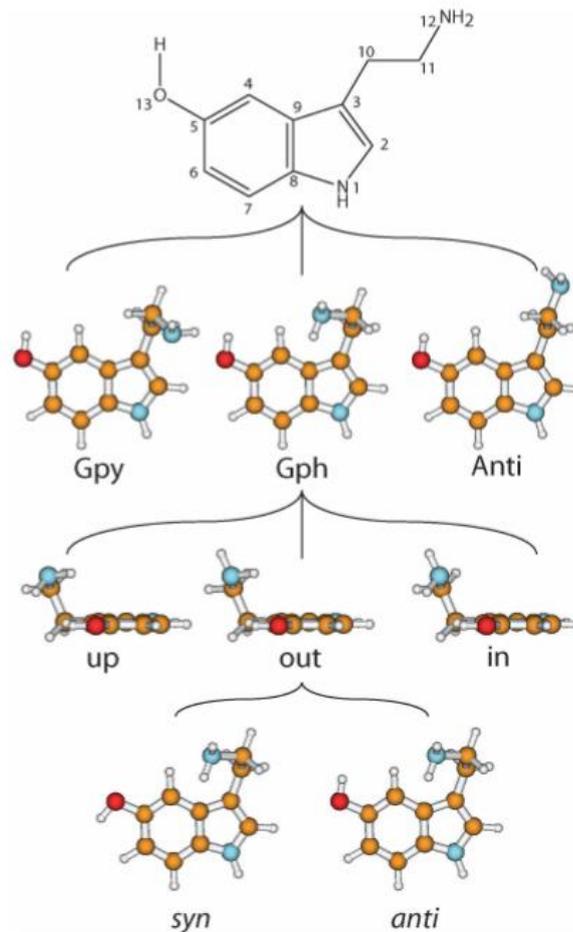


Figura 2. Nomenclatura de los conformeros basada en la orientación del grupo  $\text{NH}_2$ , la orientación de su par solitario y de las dos conformaciones del grupo OH. Referencia tomada de: [6]

Por último, también hay que tener en cuenta que el grupo hidroxilo puede tomar dos posibles orientaciones denominadas *anti*, cuando es anti-paralelo al enlace NH del anillo pirrólico, y *syn*, cuando es paralelo.

Como la serotonina no posee un centro quiral, aquellos conformeros que posean la cadena aminoetil con la misma disposición hacia arriba y hacia abajo del plano aromático, son imágenes especulares, por lo que el estudio se llevará a cabo sobre uno de los lados del plano puesto que los resultados serían idénticos hacia el otro lado. Para obtener toda la familia de conformeros estables se recurre a variar los 3 ángulos diedros a continuación definidos y gráficamente mostrados siguiendo el estudio realizado por van Mourik et al.<sup>[8]</sup>:

\*  $\gamma_C$  ( $\text{C}_\delta\text{-C}_\gamma\text{-C}_\beta\text{-C}_\alpha$ ): ángulo diedro que define la posición de la cadena aminoetil con respecto al plano indólico.

\*  $\gamma_N$  ( $\text{C}_\gamma\text{-C}_\beta\text{-C}_\alpha\text{-N}$ ): ángulo diedro que define la posición del grupo amino.

\*  $\gamma_{lp}$ : ángulo diedro que define la orientación del par solitario del grupo amino y es calculado como  $\frac{1}{2}(d_{H1} - d_{H2}) - 180^\circ$ , donde  $d_{H1}$  y  $d_{H2}$  son los ángulos diedros  $C_\beta-C_\alpha-N-H1$  y  $C_\beta-C_\alpha-N-H2$ , respectivamente.

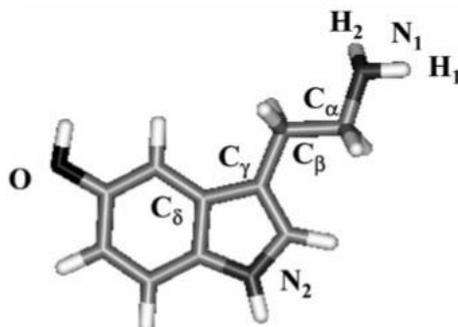


Figura 3. Etiquetado de los átomos en la serotonina. Referencia tomada de: [8]

Siguiendo el trabajo de van Mourik et al.<sup>[8]</sup> se generan los 12 conformeros anti y los 12 syn variando los 3 ángulos diedros, así pues, para  $\gamma_c$  se tomaron los valores:  $0^\circ$ ,  $60^\circ$   $120^\circ$  y  $180^\circ$ ; y para  $\gamma_N$  y  $\gamma_{lp}$  se tomaron:  $60^\circ$ ,  $180^\circ$  y  $300^\circ$ . La siguiente imagen ilustra los 12 conformeros anti de la serotonina localizados en dicho estudio y que se toman como base para el presente proyecto.

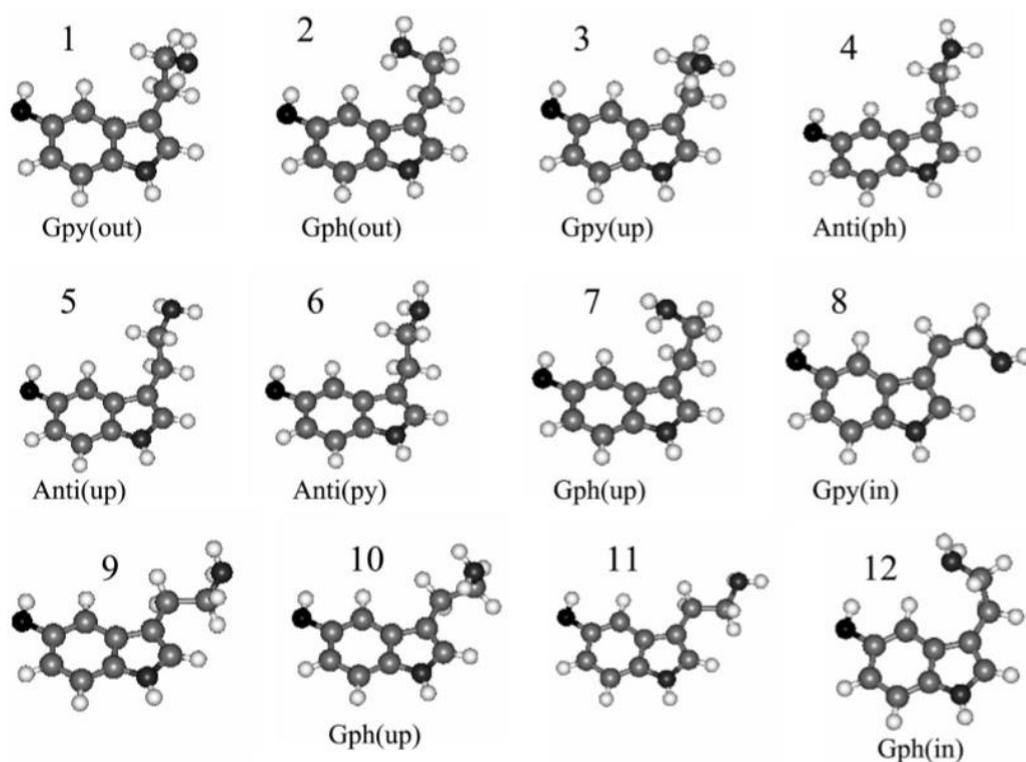
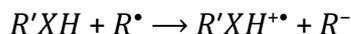


Figura 4. Estructuras de los 12 conformeros OH-anti ordenados en aumento de energías totales,  $E_e$ , según

el método B3LYP/6-31+G\* y nombradas según Carney y Zwier. Referencia tomada de: [8]

La serotonina, como antioxidante primario, es capaz de inactivar radicales libres de acuerdo con los tres siguientes mecanismos<sup>[8]–[10]</sup>:

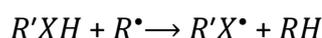
**1) Mecanismo de transferencia de un electrón (SET):** el antioxidante R'XH dona un electrón al radical libre de forma que:



El anión  $R^{-}$  es una especie energéticamente estable con un número par de electrones, mientras que el catión radical  $R'XH^{+\bullet}$  es también una especie menos reactiva. En este caso, el potencial de ionización (IP) del antioxidante es el que juega un papel crucial a la hora de discernir la viabilidad de este mecanismo y se computa como la diferencia de entalpía entre productos y reactivos de la reacción:

$$IP(R'XH) = H(R'XH^{+\bullet}) - H(R'XH)$$

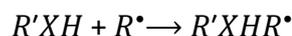
**2) Transferencia de átomo de hidrógeno (HAT):** el antioxidante R'XH reacciona con el radical libre  $R^{\bullet}$  transfiriéndole un átomo de hidrógeno mediante ruptura homolítica del enlace X-H de forma que:



Los productos de la reacción son la especie no dañina RH y el radical oxidado  $R'X^{\bullet}$ . Aun cuando la reacción conduzca a la generación de otro radical, éste, dadas las características del antioxidante, será mucho menos reactivo que  $R^{\bullet}$ . Un parámetro que nos puede indicar la facilidad con que se pueda producir este mecanismo es la energía de ruptura del enlace del átomo de hidrógeno (BDE) y se calcula mediante la diferencia de entalpía entre los productos y reactivos de la reacción:

$$BDE(R'XH) = H(R'X^{\bullet}) + H(H^{\bullet}) - H(R'XH)$$

**3) Formación de un aducto radical (RAF):** la especie antioxidante capta el radical libre mediante la formación de un aducto:



La magnitud termodinámica adecuada para cuantificar este mecanismo es la entalpía de reacción asociada a la formación del aducto.



### 3 - Objetivos y Plan de Trabajo

Los principales objetivos que se han pretendido abarcar en este Trabajo de Fin de Grado son los siguientes:

- Obtener todas las estructuras estables posibles de la serotonina mediante los métodos semi-empíricos AM1 y PM3 utilizando el programa Hyperchem<sup>[12]</sup>.
- Re-optimización de las estructuras mediante el programa Gaussian<sup>[13][14]</sup> aplicando la Teoría del Funcional de la Densidad (DFT) con la base 6-311++G(d,p) y el funcional M05-2X en vacío y solución y análisis de sus energías y estabilidad, además de la obtención de las poblaciones relativas según Maxwell-Boltzmann.
- Seleccionar la estructura más probable de existir en medio fisiológico.
- Estudio de los mecanismos antioxidantes SET, HAT y RAF sobre la estructura dilucidada como más estable.

Para llevar a cabo estos objetivos, el plan de trabajo ha constado de los siguientes puntos:

- Revisión bibliográfica del contexto actual del tema tratado.
- Obtención de todos los conformeros, optimización mediante AM1 y PM3 y re-optimización mediante la Teoría del Funcional de la Densidad (DFT) usando la base 6-311++G(d,p) y el funcional M05-2X.
- Obtención de las estructuras generadas por los mecanismos antioxidantes y estudio de su viabilidad.
- Análisis de resultados y conclusiones.
- Realización de la memoria.



## 4 - Metodología

El objetivo fundamental de las simulaciones computacionales en Química es estudiar cuantitativamente los sistemas químicos sin acudir a la experimentación. Para ello se desarrollan teorías y modelos que intentan describir el comportamiento de los sistemas químicos. Su objetivo no es sustituir la experimentación, que siempre será necesaria, sino complementarla. Pero en muchas ocasiones puede ser muy beneficioso disponer de información teórica previa a la realización de un experimento, bien para su correcto diseño o para la interpretación de los resultados. En otras ocasiones puede ser económicamente ventajoso realizar experimentos virtuales mediante modelización de los sistemas químicos, antes de pasar a efectuar un experimento en el laboratorio. En casos extremos es la única alternativa posible ante la dificultad o imposibilidad de realizar experimentos, esto ocurre en Química Interestelar.

Algunos de los objetivos destacables que se pueden conseguir mediante los estudios de simulación en Química son los siguientes:

- Geometría molecular: formas de las moléculas, distancias de enlace, ángulos de enlace...
- Energías de las moléculas: estabilidades relativas de isómeros, entalpías de reacción...
- Reactividad química: caracterización de estados de transición, mecanismos de reacción...
- Espectros moleculares: predicción e interpretación de los espectros de rotación, IR, UV, RMN, RSE...
- Interacciones: interacciones moleculares, información sobre la interacción de un enzima con un sustrato...
- Propiedades físicas: de polímeros, sólidos y nuevos materiales.
- Evolución temporal: modelización de la dinámica de los sistemas químicos.

La Química Computacional<sup>[15]</sup> proporciona las herramientas adecuadas para la resolución de las ecuaciones planteadas por la Química Cuántica, lo cual a su vez permite realizar descripciones y modelos teóricos de sistemas moleculares concretos regidos por dichas ecuaciones. No obstante, la mayoría de estos sistemas entrañan una gran complejidad de cálculo, muchos de ellos llegando incluso a ser irresolubles con las

herramientas fisicomatemáticas actuales, por lo que se hace necesaria la aplicación de aproximaciones que posibiliten la resolución de las expresiones que gobiernan el sistema, provocando a su vez la menor alteración posible de los resultados. Así pues, una aproximación burda simplificará enormemente el sistema, pero ofrecerá datos poco precisos sobre el funcionamiento de este, mientras que los supuestos de mayor sofisticación arrojarán resultados mucho más fiables, pero también comprometerán el estudio al incrementar el coste computacional del análisis en mayor o menor medida. Del mismo modo, el estudio de estructuras más complejas, es decir, con mayor número de átomos, introducirá un gran número de variables adicionales en el sistema, encareciendo el cálculo a nivel matemático con respecto a otras moléculas más sencillas como por ejemplo el sistema monoelectrónico  $H_2^+$ .

A continuación, se definen algunos de los fundamentos de la Química Cuántica y, por consiguiente, los métodos computacionales a los que se ha dado lugar y que se han utilizado en el presente trabajo.

#### 4.1 - La ecuación de Schrödinger y la aproximación de Born-Oppenheimer

La ecuación de Schrödinger<sup>[15], [16]</sup> independiente del tiempo para un sistema molecular es la siguiente:

$$H * \Psi(r) = E * \Psi(r)$$

*Ecuación 1. Ecuación de Schrödinger independiente del tiempo.*

Donde  $\Psi(r)$  es la función de onda, que describe la situación del sistema en cada punto del espacio,  $E$  es la energía del sistema y  $H$  es el operador Hamiltoniano que puede desglosarse en una parte electrónica y otra nuclear:

$$H = H_{elec} + H_N$$

*Ecuación 2. Expresión del Hamiltoniano como suma de términos electrónico y nuclear.*

La ecuación 1 se trata de una ecuación de valor propio cuya aplicación del operador Hamiltoniano a la función de onda del sistema da lugar a esa misma función multiplicada por el valor de la energía. Puesto que muchas de las propiedades de cualquier estructura química dependen de la energía de esta, el estudio

mecanocuántico persigue la obtención de este valor. Sin embargo, para todo sistema no hidrogenoide, es decir, con más de un núcleo y más de un electrón, la ecuación es irresoluble y, por lo tanto, se deben realizar una serie de aproximaciones.

La primera simplificación que se va a tratar es la aproximación de Born-Oppenheimer<sup>[15]</sup>,<sup>[16]</sup>, la cual se trata de una simplificación formal ya introducida en el operador Hamiltoniano. Dicha aproximación contempla que debido a la enorme diferencia de masa entre los electrones y los núcleos en torno a los que orbitan, se puede considerar que sus velocidades serán acordes a dicha diferencia y, por lo tanto, que los últimos permanecen aproximadamente estáticos en el tiempo que dura el movimiento de los primeros. De esta forma, el Hamiltoniano molecular, que en principio contaría con términos correspondientes a la energía cinética de núcleos y electrones y a la energía potencial resultante de la interacción de unos con otros, se ve simplificado de la siguiente manera:

$$H = T_{electrónico} + V_{Ne} + V_{ee} + V_{NN}$$

*Ecuación 3. Expresión del Hamiltoniano molecular simplificado.*

Así pues, el Hamiltoniano se desglosa en 4 términos, un término cinético electrónico y tres potenciales, uno de los cuales, el internuclear  $V_{NN}$ , es constante. Al introducir este Hamiltoniano aproximado en la ecuación de Schrödinger se obtendrá el valor de la energía electrónica correspondiente a una determinada estructura del esqueleto nuclear.

#### **4.2 - La superficie de energía potencial (SEP)**

El concepto de superficie de energía potencial<sup>[16]</sup> descansa sobre la aproximación de Born-Oppenheimer que, como se explicó anteriormente, permite separar el movimiento de los electrones del de los núcleos debido a su mucha mayor masa pues se toma la consideración de que estos permanecen prácticamente en posiciones fijas en el espacio durante el transcurso del movimiento de los electrones. De esta manera, se puede expresar la energía del sistema en función de los parámetros geométricos (distancias, ángulos de enlace, ángulos diedros):  $E=E(R)$ , donde R simboliza el conjunto de coordenadas o variables geométricas del sistema. La representación de la energía en

función de los parámetros geométricos da lugar a la Superficie de Energía Potencial (SEP). En realidad, se trata de una hipersuperficie, ya que si se tienen  $n$  variables o coordenadas geométricas se necesitaría un espacio de dimensión  $n+1$  para representarla. En el espacio tridimensional o bidimensional se acude a cortes en la SEP o proyecciones en un plano (ver Figuras 5 y 6).

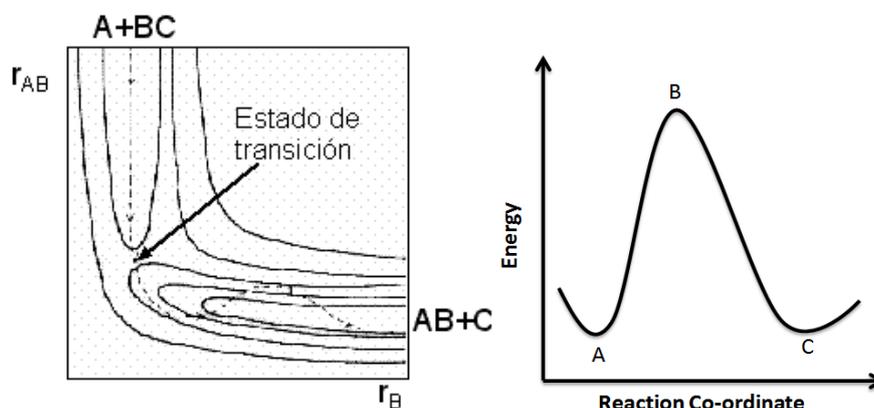


Figura 5. Ejemplo de SEP en 2D.

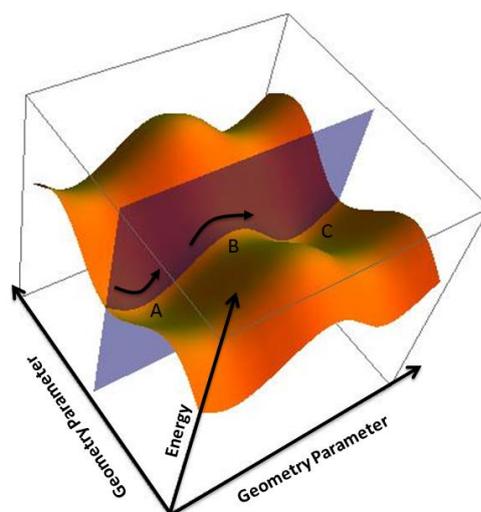


Figura 6. Ejemplos de SEP en 3D.

Para una molécula diatómica  $E(R)$  es función de la distancia internuclear  $R$ , la cual a veces se expresa en función de  $r-r_e$  siendo  $r_e$  la distancia de equilibrio, y puede representarse con una curva de energía potencial (Figura 7). El límite asintótico cuando  $R \rightarrow \infty$  corresponde a los átomos separados. Dentro de la curva de potencial se encuentran los distintos niveles de vibración accesibles a la molécula.

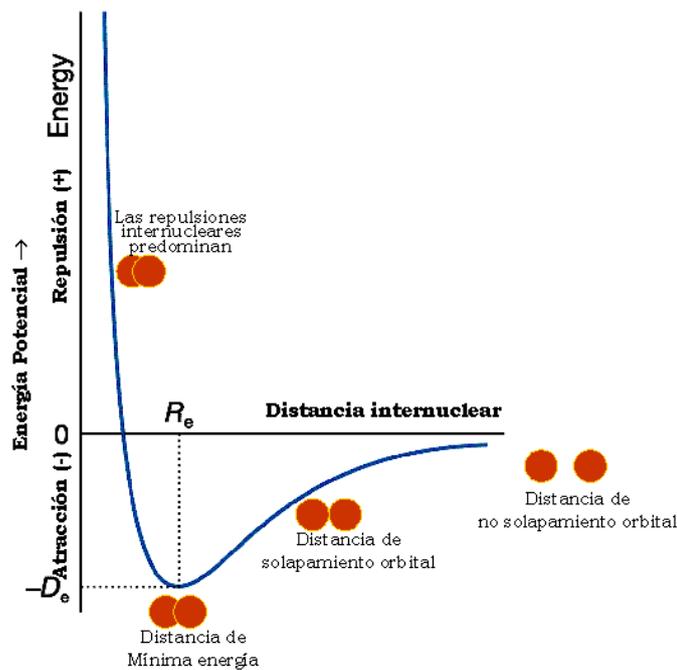


Figura 7. Curva de potencial.

En la siguiente imagen (Figura 8) se representa una superficie de energía potencial de la cual se desprende:

- Las estructuras de equilibrio corresponden a las posiciones de los mínimos en los valles de la SEP.
- La energética de la reacción puede calcularse a partir de las diferencias de altura de los mínimos de reactivos y productos.
- Un camino de reacción conecta reactivos y productos a través de un paso de montaña.
- La estructura del estado de transición corresponde al punto de mayor energía a lo largo del camino de mínima energía.
- Las constantes cinéticas pueden calcularse a partir de la altura y el perfil de la SEP alrededor del estado de transición.
- La forma del valle de reactivos determina su estructura vibracional.

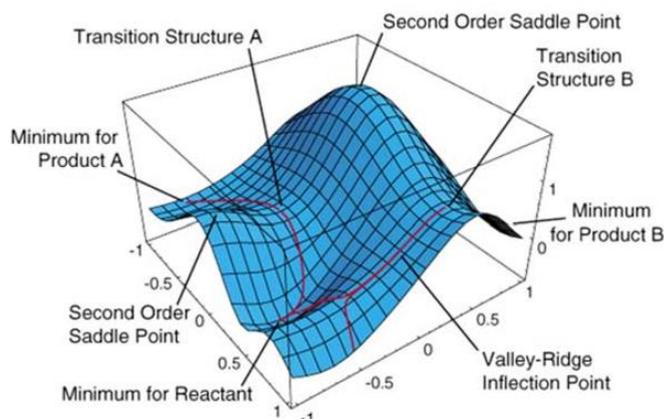


Figura 8. Superficie de Energía Potencial.

Uno de los aspectos interesantes que surgen en algunas moléculas, sobre todo orgánicas y biológicas, es la posibilidad de que existan distintos conforméromos. Los conforméromos tienen el mismo esqueleto químico y se obtienen por rotación alrededor de enlaces. El análisis conformacional describe los aspectos energéticos en la SEP resultantes de la interconversión entre los distintos conforméromos.

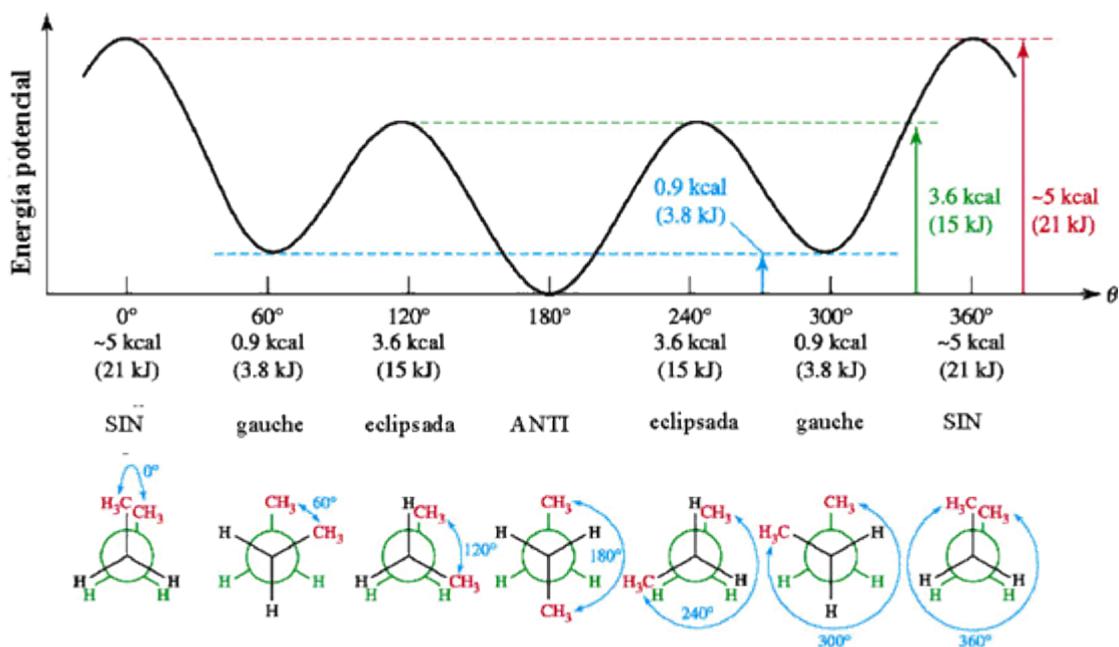


Figura 9. Ejemplo de análisis conformacional del butano según sus aspectos energéticos.

El estudio de la superficie de energía potencial permitiría obtener datos de toda la dinámica interna del sistema. Sin embargo, construirla por completo no solo tendría un coste computacional enormemente elevado, sino que además para sistemas complejos resultaría en una hipersuperficie que se expresa en más de tres dimensiones, de modo

que no es posible representarla de forma comprensible. Debido a esto, un cálculo de la superficie de energía potencial completa no es eficiente y es preferible limitarse a la obtención de puntos críticos, es decir, aquellos puntos de la función en los cuales la primera derivada de la energía con respecto a todas las coordenadas es nula.

### 4.3 - La optimización

Al problema de encontrar los mínimos en la superficie de energía potencial se le suele denominar optimización de geometrías<sup>[15], [17], [18]</sup>. La optimización no es problema sencillo, ya que hay ocasiones en que no tenemos la certeza absoluta de que hemos caracterizado el mínimo global, esto es el isómero o conformación más estable para la molécula. Además de la intuición química, que puede ayudar, conviene tomar precauciones y probar distintas geometrías de partida que nos puedan conducir al mínimo global.

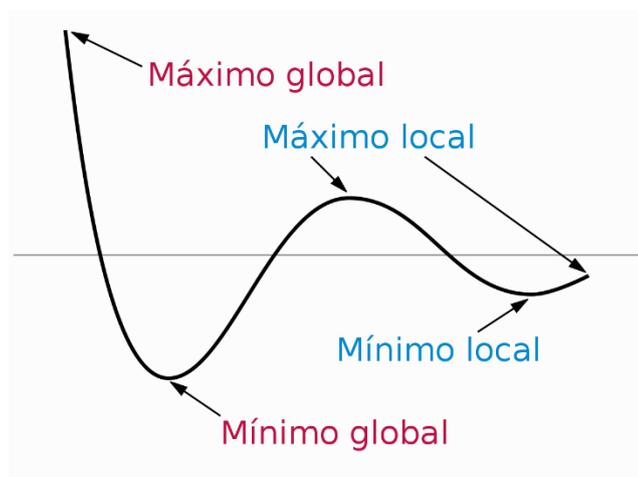


Figura 10. Diferencia entre mínimo y máximo local y global.

Así pues, se introducen dos nuevas definiciones: gradiente y hessiano. Se denomina gradiente al vector cuyos elementos son las derivadas primeras de la energía con respecto a las coordenadas:

$$\frac{\partial E}{\partial q_i}$$

Ecuación 4. Definición de gradiente.

Y se denomina hessiano a la matriz cuyos elementos son las derivadas segundas de la energía con respecto de las coordenadas:

$$\frac{\partial^2 E}{\partial q_{ij}^2}$$

*Ecuación 5. Definición de hessiano.*

Una vez encontrados los puntos críticos donde el gradiente sería nulo, se procedería al cálculo de la segunda derivada de la superficie de energía potencial o, lo que es lo mismo, a la aplicación del operador laplaciano sobre la misma en dichos puntos. Lo que se busca es determinar si se tratan de mínimos locales, en cuyo caso la laplaciana es positiva en todas las direcciones y representan estados estables de la estructura. O si por el contrario se tratan de puntos de silla de primer orden, en cuyo caso la laplaciana es positiva en todas las direcciones excepto en una y corresponden al máximo del recorrido entre mínimos más favorable posible y, por lo tanto, son estados de transición. Los puntos críticos de otra naturaleza, como por ejemplo máximos en más de una dirección, no presentan demasiada importancia química, ya que el sistema evitará pasar por ellos en su evolución de un estado a otro y, por lo tanto, su estudio carece de interés.

En resumen, se puede operar imponiendo a la superficie de energía potencial la condición de mínimo local, lo cual, a través de un cálculo iterativo, acercará al sistema a su estado menos energético y, por lo tanto, más probable. Sin embargo, es necesario aportar al cálculo un punto de inicio, es decir, un conjunto de funciones primitivas que por afinación variacional sucesiva originen la geometría deseada como resultado final.

Los algoritmos de optimización siguen el siguiente esquema:

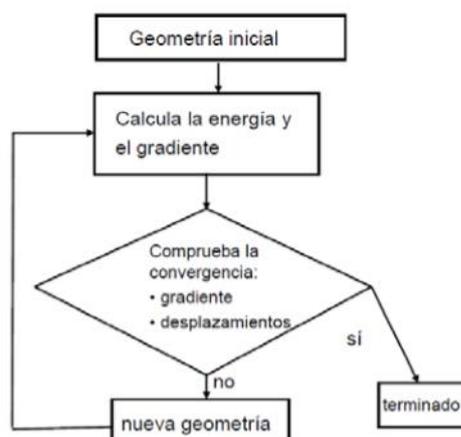


Figura 11. Esquema de algoritmos de optimización.

Dentro de los métodos implementados en Hyperchem, en el presente trabajo se ha utilizado Polak-Ribiere y este es un método que emplea gradientes conjugados, es decir, minimiza la energía en la dirección que minimiza el gradiente y utiliza la información del gradiente del paso anterior.

#### 4.4 - Las funciones base

Las funciones base<sup>[15], [16]</sup> son expresiones diseñadas para simular una función de onda de prueba a partir de la cual se realiza un cálculo iterativo que permite obtener un valor de energía acorde al modelo. Los orbitales moleculares,  $\phi$ , se expresan como combinación lineal de funciones base,  $\chi$  (orbitales atómicos):

$$\phi = \sum_i c_i \chi_i$$

Ecuación 6. Expresión para orbitales moleculares.

Y los orbitales atómicos se expresan como:

$$\chi = N Y(\theta, \gamma) R(r)$$

Ecuación 7. Expresión para orbitales atómicos.

Donde N es la constante de normalización,  $Y(\theta, \gamma)$  es la parte angular y  $R(r)$  es la parte radial. Este último término, el de la parte radial, puede expresarse de dos formas diferentes, mediante funciones de tipo Slater o de tipo gaussiana.

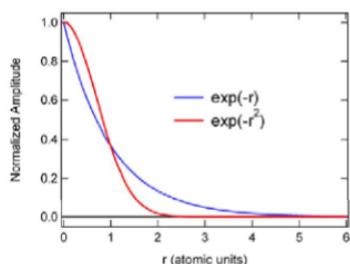
De entre todas las funciones de onda que describen sistemas reales, solo las referidas a orbitales hidrogenoides poseen una descriptiva accesible con las herramientas fisicomatemáticas actuales. Sin embargo, incluso la implementación de una función relativamente sencilla como es la hidrogenoide puede presentar problemas de cálculo, por lo que es necesario recurrir a simplificaciones. Una primera aproximación al problema sería considerar una función que exprese un orbital de tipo Slater (STO, Slater-type Orbitals) el cual reproduce con cierta fidelidad el comportamiento de un orbital hidrogenoide. Sin embargo, su interés en la práctica es muy limitado debido a que los términos e integrales bielectrónicos a los que da lugar el uso de este tipo de funciones en la ecuación de Schrödinger presentan una gran complejidad de cálculo.

Una alternativa a las funciones de Slater es el uso de orbitales gaussianos (GTO, Gaussian-type Orbitals), cuya expresión es la siguiente:

$$\phi^{GTO} = N_{\alpha} * r^{n-1} * e^{-\alpha r^2} * Y_1^{m_1}$$

*Ecuación 8. Expresión para orbitales de tipo gaussiano.*

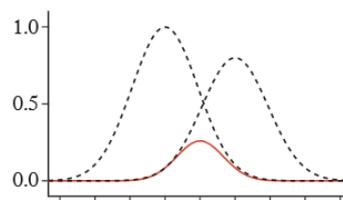
La principal diferencia con respecto a la de Slater es el término  $r^2$ , que permite resolver los términos problemáticos de la ecuación de Schrödinger de una forma más simple y, debido a ello, este tipo de orbitales son utilizados de forma prácticamente universal en el campo del análisis computacional. Sin embargo, una función gaussiana por sí sola constituye una representación muy pobre de la parte orbital, especialmente en el entorno del origen y en regiones muy alejadas de este, al carecer del comportamiento asintótico esperable en la descripción del orbital. Además, las funciones gaussianas decrecen mucho más rápido que aquellas de Slater al aumentar la distancia al núcleo.



Las funciones STO describen mejor el comportamiento atómico, tanto a cortas como a largas distancias, que los GTO

#### STO

- Ventajas: mejor descripción (se necesitan menos funciones)
- Inconvenientes: cálculo numérico de integrales costoso
- Uso: moléculas pequeñas, métodos semiempíricos



El producto de dos gaussianas es una nueva gaussianas centrada en un punto intermedio a las originarias.

#### GTO

- Ventajas: cálculo de integrales analítico sencillo
- Inconvenientes: peor descripción, se necesitan más funciones
- Uso: muy generalizado

Figura 12. Representación de STO y GTO junto a sus ventajas, inconvenientes y usos.

Para solucionar este problema, se han desarrollado los llamados orbitales gaussianos contraídos (CGTO), que se expresan como combinaciones lineales de funciones primitivas, siempre gaussianas, con distintos exponentes:

$$\phi^{CGTO} = \sum_{p=1}^l d_p \phi_p^{GTO}$$

Ecuación 9. Expresión para orbitales de tipo gaussianos contractos.

De manera que los coeficientes de contracción,  $d_p$ , se determinan para los cálculos atómicos y sus valores se mantienen fijos en los cálculos moleculares.

Es importante subrayar que cuanto mayor sea el número de funciones contraídas en el nuevo orbital, mejor será la descripción que este ofrezca del orbital real, pero también mayor será el coste computacional del cálculo. Sin embargo, el cálculo de las integrales planteadas por este tipo de funciones sigue siendo más sencillo que el que supondría usar funciones de Slater u otros tipos de orbitales.

Ahora bien, de cara a representar un sistema molecular esto presenta un cariz más complejo puesto que a medida que aumenta el número de átomos de la estructura, lo hace también el número de orbitales considerados y, ello a su vez, conlleva a un incremento exponencial del coste computacional de operación. Puesto que es necesario utilizar una función para describir cada orbital ocupado del estado fundamental de cada uno de los átomos que intervienen en el sistema, el menor conjunto de base posible

contemplará tantas funciones como orbitales ocupados haya en la estructura, este conjunto recibe el nombre de base mínima.

Como a menudo la descripción del sistema que ofrece una base mínima no es lo suficientemente fiel a la realidad, se hace necesario dotar al cálculo de funciones base adicionales para describir ciertos elementos del sistema. Una de las formas de hacer esto consiste en plantear más de una función para cada orbital, dando lugar a los conjuntos conocidos como doble zeta (DZ), triple zeta (TZ), etc., dependiendo de si cada orbital conlleva dos, tres o más funciones. A veces, no obstante, es suficiente con plantear este desdoblamiento para los orbitales de valencia, ya que los internos al presentar menor interacción con el entorno suelen poder describirse sin mayor problemática por medio de una función sencilla. Esto sería lo que se conoce como una base extendida de valencia.

Otra forma de ampliar el conjunto de funciones base consiste en introducir funciones que representen orbitales que no se encuentren ocupados en el estado fundamental del átomo correspondiente. Estas se denominan funciones de polarización, ya que permiten dar cuenta de esta, debida a su vez a las interacciones de enlace que se producen en direcciones distintas a la orientación del propio orbital, y representan orbitales con un número cuántico  $l$  superior al de aquellos de valencia del átomo.

Finalmente, en según qué sistema puede ser también interesante agregar al conjunto de base las llamadas funciones difusas. Estas son expresiones con exponentes pequeños que permiten describir el comportamiento electrónico en regiones espaciales alejadas del núcleo, lo cual es importante para la determinación de algunas propiedades moleculares.

La dinámica de estas regiones alejadas contribuye poco a la energética total del sistema, por lo que su estudio es a priori complicado, pero la inclusión de estas funciones permite describirlas de una forma eficaz, posibilitando así el cálculo de sus características.

Teniendo en cuenta todo esto, en el presente trabajo se ha realizado la re-optimización de los cónformeros mediante el programa Gaussian se aplica la Teoría del Funcional de la Densidad y se utiliza el conjunto de base 6-311++G(d,p), una de las llamadas bases de Pople. Este conjunto consta de una única función de base contraída para describir los orbitales internos, que está compuesta por 6 funciones primitivas de tipo GTO, y tres

para los orbitales de valencia, la primera de ellas contiene tres gaussianas primitivas y la segunda solo una, así como funciones de polarización d y p. Las funciones d sirven para completar la descripción de los átomos más pesados del sistema, como carbono, nitrógeno y oxígeno, mientras que las funciones p hacen lo mismo, pero para los átomos de hidrógeno. Además, la base incluye un juego de funciones difusas para los átomos pesados representado por el signo + y otro para los átomos de hidrógeno, simbolizado por el segundo signo +.

#### 4.5 - Métodos de la Química Cuántica

A diferencia de los métodos de Mecánica Molecular en los que se utilizan únicamente conceptos de Mecánica Clásica, en los métodos de la Química Cuántica se aplican las ecuaciones de la Mecánica Cuántica para el estudio de los sistemas moleculares. El precio a pagar es un considerable aumento del coste computacional de los cálculos, lo cual limita también su aplicación en cuanto al tamaño de los sistemas a estudiar. Aunque existen diferentes niveles de aproximación que permiten abordar sistemas químicos grandes. El hecho de aplicar metodologías mecano-cuánticas posibilita, además, estudiar las propiedades electrónicas de los sistemas puesto que se tratan realmente a los electrones a través de ecuaciones, así como procesos químicos en los que se producen cambios electrónicos, es decir, reacciones en que se rompen o forman enlaces. Por lo tanto, cuando se pueden aplicar son mucho más potentes que los métodos de Mecánica Molecular.

Las diferentes metodologías de la Química Cuántica difieren en cómo abordan el planteamiento del Hamiltoniano y/o en el cálculo de los elementos del determinante secular.

Se distingue en general las siguientes metodologías<sup>[19],[18]</sup>:

- 1) Métodos semiempíricos: en ellos se pueden despreciar algunos términos del Hamiltoniano o simplificar algunas integrales, despreciándolas u obteniéndolas a partir de información experimental. Dentro de estos podemos encontrar:
  - + Métodos monoelectrónicos en los que se desprecia la repulsión interelectrónica  $V_{ee}$  (ver ecuación 3) en el Hamiltoniano y las integrales se obtienen a partir de

información experimental. Ejemplos de este método son Hückel (HMO, Hückel Molecular Orbital) para moléculas con sistema de electrones  $\pi$  conjugados y Extended Hückel (EHMO) para tratar moléculas generales.

+ Simplificación de integrales y uso de información experimental, dentro de los cuales se encuentra la aproximación ZDO (zero differential overlap) y derivados: CNDO, INDO, MNDO, AM1, PM3.

- 2) Métodos ab initio o a partir de primeros principios: se plantea un Hamiltoniano efectivo y las integrales se evalúan haciendo uso únicamente de los valores de constantes universales, es decir, no haciendo uso de información experimental. Dentro de estos se encuentran:
  - + Métodos Hartree-Fock (HF) o método de Campo Autoconsistente (SCF, self consistent field) en el cual la repulsión interelectrónica se considera de forma promediada.
  - + Métodos post-HF el cual se realiza una incorporación de correlación electrónica a través de procedimientos variacionales (CI, MCSCF), perturbativos (MP) o agregados acoplados (CC).
- 3) Teoría del Funcional de la Densidad (DFT): en estos se aplica una metodología alternativa, centrándose en la densidad electrónica. Puede formularse no obstante de manera parecida a Hartree-Fock (formulación de Kohn-Sham).

En el presente trabajo se han utilizado los métodos semiempíricos AM1 y PM3, los cuales se van a definir a continuación. Los métodos semiempíricos, a diferencia de otros, permiten obtener buenas aproximaciones en un tiempo razonable y con costes computacionales relativamente bajos. Además, combinan teorías físicas con evidencias experimentales, por ejemplo, el método simple de Hückel (SHM) y el método extendido de Hückel (EHM), ambos semiempíricos, comienzan con la ecuación de Schrödinger y a partir de esta se derivan un conjunto de ecuaciones seculares que pueden ser resueltas para niveles de energía y orbitales moleculares. No obstante, el SHM da niveles de energía cuyas unidades dependen de un parámetro  $\beta$  y estos pueden ser convertidos a valores reales comparando los resultados con el SHM y experimentos, por su parte el EHM usa energías de ionización experimentales para convertir los elementos de la matriz de Fock en valores de energía reales. Los métodos semiempíricos simplemente se

basan en la construcción de una matriz de Fock y su diagonalización para obtener los niveles de energía de los orbitales moleculares (MO), y sus coeficientes (MOs). Los elementos en la matriz en el método simple de Hückle eran simplemente energías relativas 0 y -1. En el método extendido de Hückle los elementos se calculaban a través de energías de ionización. Una diagonalización simple de la matriz da como resultado los niveles de energía y los coeficientes de los orbitales moleculares. La diferencia con el método ab initio radica en que tratan solo electrones  $\pi$  o de valencia, las funciones matemáticas se usan para expandir los MOs, en cómo el núcleo y las integrales son tratadas y en el tratamiento de la matriz de solapamiento. Estas aproximaciones son tratadas en detalle por Dewar.

El método Austin 1, AM1<sup>[20]</sup>, fue desarrollado por la Universidad de Austin y fue presentado por Dewar, Zoebisch Healy y Steward. El método AM1 es una versión mejorada del método MNDO debido a que este último aporta una predicción bastante pobre de energías y geometrías en los enlaces de hidrógeno. El cambio principal es que las repulsiones núcleo-núcleo fueron modificadas para superar la tendencia de MNDO de sobreestimar las repulsiones entre átomos separados por una distancia aproximada al radio de van der Waals, dichas repulsiones fueron modificadas mediante la introducción de funciones Gaussianas atractivas y repulsivas centradas en puntos internucleares y el método fue reparametrizado. Así pues, la energía de repulsión entre dos núcleos A y B se define como:

$$V_N(A, B) = Z_A Z_B (S_A S_A | S_B S_B) + \frac{Z_A Z_B}{r_{AB}} \sum_{i=1}^4 [a_{A,i} e^{-b_{A,i}(R_{AB}-C_{A,i})^2} + a_{B,i} e^{-b_{B,i}(R_{AB}-C_{B,i})^2}]$$

*Ecuación 10. Expresión para la energía de repulsión entre dos núcleos A y B.*

La mayor parte de las variables pertenecen a la energía de repulsión según el método MNDO, el cual:

$$V_N = \sum_{k < l}^{\text{núcleo}} Z_k Z_l (S_k S_k | S_l S_l) \left( 1 + \frac{1}{\tau} e^{-\alpha Z_k r_{kl}} + e^{-\alpha Z_l r_{kl}} \right)$$

*Ecuación 11. Expresión para la energía de repulsión según el método MNDO.*

Además, cada átomo tiene hasta 4 parámetros a, b y c que describen funciones Gaussianas centradas en varias distancias c que modifican el potencial de fuerza media

entre dos átomos. Los cálculos con el método AM1 son rápidos y el modelo es razonadamente robusto dentro de un amplio intervalo de funcionalidades químicas.

El método PM3 es una variación del método AM1, cuya diferencia principal radica en cómo está hecha la parametrización. El desarrollador del método, J.P. Stewart, sentía que el desarrollo del método AM1 no había sido optimizado completamente desde un punto de vista estadístico debido a que la optimización de los parámetros se había logrado de forma escalonada lo que conlleva más error, además la búsqueda del espacio de parámetros no había sido tan exhaustiva como se hubiera deseado y muchos parámetros habían dependido, en muchos casos, de cómo los viera el investigador, validándolos o no. Stewart tenía una filosofía más matemática y pensaba que llevando a cabo una completa optimización con algoritmos sería más eficaz y exitosa. Para este fin, Stewart llevo a cabo la optimización simultánea de parámetros para H, C, N, O, F, Al, Si, P, S, Cl, Br y I. Adoptó una forma funcional idéntica de NDDO al igual que el método AM1, pero con la diferencia de que limitó a dos funciones Gaussianas por átomo en vez de cuatro como en el método AM1<sup>[21],[22]</sup>.

Los métodos AM1 y PM3 pueden dar problemas para compuestos nitrados, peróxidos o con enlace P-O, pero en el caso de la serotonina no presenta ninguno de estos problemas, por lo que como primera opción son la mejor opción en Hyperchem<sup>[23]</sup>.

Además, en el presente trabajo se utiliza el método DFT con el funcional M05-2X y la base 6-311++G(d,p) como re-optimización. El funcional M05-2X es uno de los Funcionales de Minnesota (Myz) y estos son un grupo de funcionales de energía de correlación de intercambio aproximados en la teoría del funcional de densidad (DFT). Están desarrollados por el grupo del Profesor Donald Truhlar en la Universidad de Minnesota, los cuales se basan en la aproximación meta-GGA, es decir, incluyen términos que dependen de la densidad de energía cinética, y están todos basados en formas funcionales complicadas parametrizadas en bases de datos de referencia de alta calidad. La llamada primera familia de los Funcionales de Minnesota se compone de los funcionales M05 y M05-2X. Y el funcional aquí empleado, el M05-2X, se define como un funcional global híbrido con un 56% de intercambio de Hartree-Fock<sup>[24]</sup>.

#### 4.6 - La simulación del disolvente: el modelo SMD

Los resultados obtenidos por medio de los métodos descritos anteriormente corresponden a datos de la molécula en vacío y, debido a ello, son meramente orientativos. El interés del estudio es la actividad antioxidante de la molécula en medios biológicos, que son casi siempre disoluciones acuosas y, debido a esto, nace la necesidad de incluir un disolvente en el modelo. Sin embargo, esto requeriría modelizar una gran cantidad de moléculas de dicho disolvente que deberán ser posteriormente agregadas al sistema, lo cual a su vez conllevaría un aumento dramático del coste computacional del análisis.

Para evitar este problema, se utilizan modelos de disolvente continuo. En estos modelos, la red molecular del disolvente es sustituida por un medio continuo y los solutos se insertan en las cavidades definidas a tal fin. Este medio continuo se caracteriza por poseer la constante dieléctrica,  $\epsilon$ , del disolvente al que representa, de manera que simula las propiedades eléctricas del mismo y provee a los solutos estudiados de una energía de solvatación acorde a la que tendrían en un disolvente real.

Para el presente trabajo se ha utilizado el SMD (Solvation Model based on Density) que construye las cavidades de los solutos haciendo uso de un conjunto de radios parametrizados en el modelo al efecto, cumpliendo así la función de simular el medio acuoso típico de los sistemas biológicos.



## 5 - Resultados

En este apartado se procederá a la exposición de todos los datos obtenidos a lo largo del desarrollo del presente trabajo, que a su vez puede estructurarse en diferentes apartados, y en aquellos puntos en los que sea posible se realizará una comparación con la bibliografía.

En un primer apartado, se realizará la búsqueda de los mínimos estables de la serotonina a través de un análisis preliminar a los niveles semiempíricos AM1 y PM3 utilizando el programa Hyperchem y cuya energética se analiza.

En un segundo apartado, se mostrará la re-optimización mediante el programa Gaussian aplicando la Teoría del Funcional de la Densidad (DFT) de los conformeros a vacío y su energética se analizará.

En un tercer apartado, se mostrará la re-optimización mediante el programa Gaussian aplicando la Teoría del Funcional de la Densidad (DFT) de los conformeros en solución y dichos datos se analizarán detenidamente para dilucidar el conformero más estable y, por lo tanto, más probable de existir en medio fisiológico.

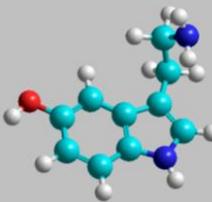
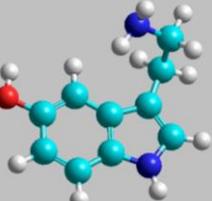
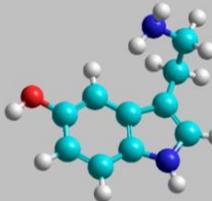
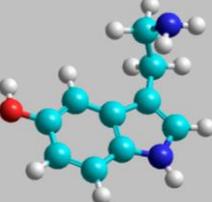
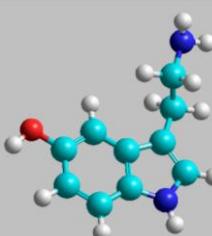
En un cuarto apartado se expondrá el análisis poblacional en vacío y solución según la teoría de Maxwell-Boltzmann.

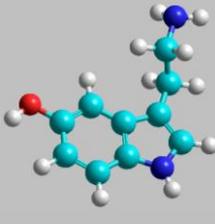
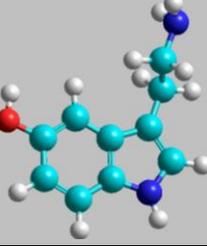
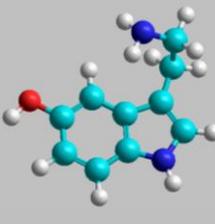
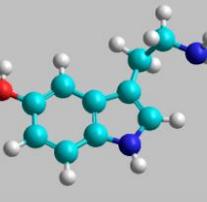
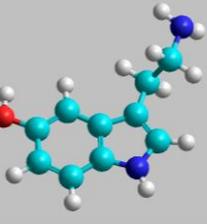
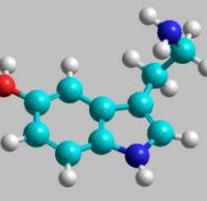
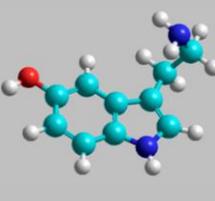
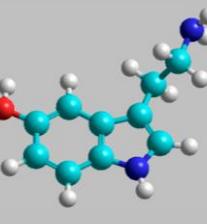
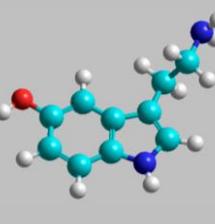
Y finalmente, en un último apartado se estudiará, sobre el conformero dilucidado como más probable de existir en medio fisiológico, la posibilidad de que se dé alguno de los mecanismos SET, HAT o RAF para los radicales hidroxilo e hidroperoxilo.

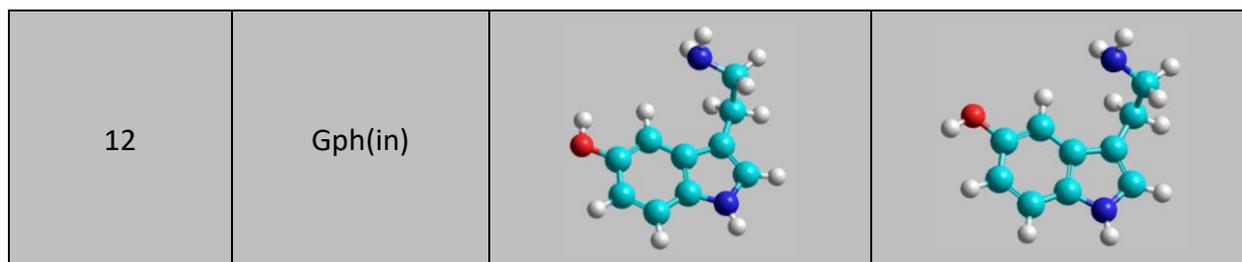
## 5.1 - Análisis a nivel semiempírico: AM1 y PM3

La búsqueda de los conformeros de una molécula flexible, como es la serotonina, recae sobre la consideración de los diferentes ángulos diedros que determinan la conformación de dicha molécula, que para un sistema del tamaño de la serotonina da lugar a cientos de posibles estructuras. Siguiendo el trabajo de van Mourik et al.<sup>[8]</sup>, se varió los tres ángulos diedros de la cadena aminoetil, como se expuso en el apartado de la introducción, de manera que se reprodujeron los mínimos estables de la serotonina. Dicho esto, un análisis preliminar de la serotonina a los niveles semiempíricos AM1 y PM3 resultó en los siguientes 12 conformeros OH-syn y 12 OH-anti.

*Tabla 1. Estructura de los 24 mínimos estables de la serotonina después de la optimización mediante los métodos semiempíricos AM1 y PM3.*

Confórmero	Nomenclatura	OH-anti	OH-syn
1	Gpy(out)		
2	Gph(out)		
3	Gpy(up)		
4	Anti(ph)		

5	Anti(up)		
6	Anti(py)		
7	Gph(up)		
8	Gpy(in)		
9			
10	Gph(up)		
11			



Se tienen 3 mínimos estables más que para la triptamina, los conformeros 9, 10 y 11. La triptamina se la puede considerar como molécula comparativa por su proximidad en cuanto a estructura, puesto que la serotonina es igual que la triptamina, pero posee un grupo hidroxilo. Estas 24 estructuras se encuentran en concordancia con las encontradas por van Mourik et al.<sup>[8]</sup> y cuya energética se muestra a continuación.

Para el análisis semiempírico AM1 se encontraron las siguientes energías para los 12 conformeros OH-anti y para los 12 OH-syn:

Tabla 2. Energías obtenidas mediante el método AM1 para los 24 mínimos estables de la serotonina.

Nombre	Conformero	E (kJ/mol)	$\Delta E$ (kJ/mol)
<b>Gpy(out)</b>	<b>1-anti</b>	-10957,98	6,57
	<b>1-syn</b>	-10956,87	7,68
<b>Gph(out)</b>	<b>2-anti</b>	-10959,48	5,07
	<b>2-syn</b>	-10956,63	7,92
<b>Gpy(up)</b>	<b>3-anti</b>	-10963,64	0,91
	<b>3-syn</b>	-10962,19	2,35
<b>Anti(ph)</b>	<b>4-anti</b>	-10955,66	8,89
	<b>4-syn</b>	-10953,54	11,01
<b>Anti(up)</b>	<b>5-anti</b>	-10962,33	2,22
	<b>5-syn</b>	-10961,01	3,54

<b>Anti(py)</b>	<b>6-anti</b>	-10955,42	9,13
	<b>6-syn</b>	-10954,69	9,86
<b>Gph(up)</b>	<b>7-anti</b>	-10964,25	0,30
	<b>7-syn</b>	-10963,62	0,93
<b>Gpy(in)</b>	<b>8-anti</b>	-10954,32	10,23
	<b>8-syn</b>	-10953,42	11,13
	<b>9-anti</b>	-10962,44	2,10
	<b>9-syn</b>	-10961,44	3,11
<b>Gph(up)</b>	<b>10-anti</b>	-10964,55	0,00
	<b>10-syn</b>	-10963,62	0,93
	<b>11-anti</b>	-10955,06	9,49
	<b>11-syn</b>	-10953,20	11,35
<b>Gph(in)</b>	<b>12-anti</b>	-10947,93	16,62
	<b>12-syn</b>	-10945,77	18,78

De estos datos se desprende que el confórmero 10 OH-anti es el más estable de todos seguido de los confórmeros 7 y 3 en disposición OH-anti. A estos tres les seguiría los confórmeros en disposición OH-syn 10 y 7, los cuales poseen la misma energía.

También, se puede observar que las conformaciones OH-anti y OH-syn están muy próximas en energía, siendo la diferencia entre ambas de unos pocos kilojulios (1-2 kJ/mol) y la conformación OH-anti sería más estable que la OH-syn, lo cual es lógico puesto que la primera se encuentra menos impedida.

Y del análisis semiempírico PM3 se obtiene:

*Tabla 3. Energías obtenidas mediante el método PM3 para los 24 mínimos estables de la serotonina.*

<b>Nombre</b>	<b>Confórmero</b>	<b>E (kJ/mol)</b>	<b><math>\Delta E</math> (kJ/mol)</b>
<b>Gpy(out)</b>	<b>1-anti</b>	-11003,40	4,72
	<b>1-syn</b>	-11002,98	5,15
<b>Gph(out)</b>	<b>2-anti</b>	-11002,92	5,21
	<b>2-syn</b>	-11000,80	7,32
<b>Gpy(up)</b>	<b>3-anti</b>	-11007,22	0,91
	<b>3-syn</b>	-11006,55	1,57
<b>Anti(ph)</b>	<b>4-anti</b>	-11002,76	5,37
	<b>4-syn</b>	-11001,53	6,60
<b>Anti(up)</b>	<b>5-anti</b>	-11008,13	0,00
	<b>5-syn</b>	-11005,20	2,93
<b>Anti(py)</b>	<b>6-anti</b>	-11002,19	5,94
	<b>6-syn</b>	-11002,04	6,09
<b>Gph(up)</b>	<b>7-anti</b>	-11004,63	3,50
	<b>7-syn</b>	-11003,71	4,41
<b>Gpy(in)</b>	<b>8-anti</b>	-10997,14	10,99
	<b>8-syn</b>	-10996,50	11,63
	<b>9-anti</b>	-11005,68	2,44
	<b>9-syn</b>	-11005,72	2,40

<b>Gph(up)</b>	<b>10-anti</b>	-11007,99	0,14
	<b>10-syn</b>	-11007,34	0,79
	<b>11-anti</b>	-11000,87	7,26
	<b>11-syn</b>	-10999,33	8,80
<b>Gph(in)</b>	<b>12-anti</b>	-10994,02	14,11
	<b>12-syn</b>	-10994,50	13,62

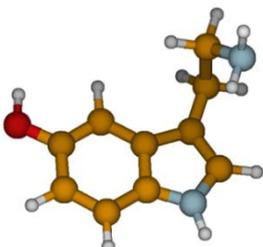
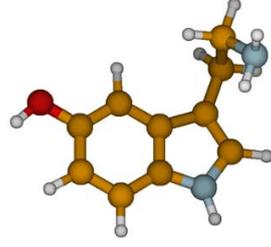
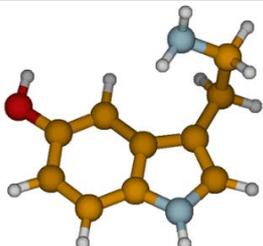
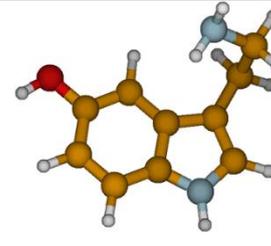
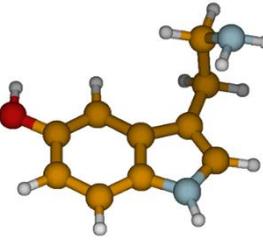
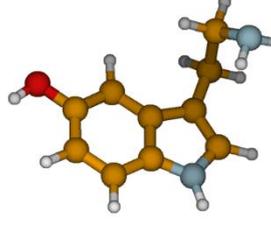
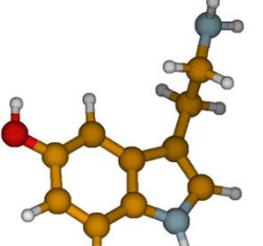
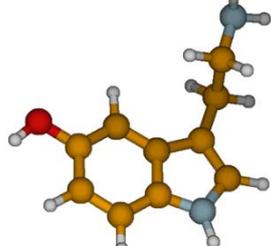
De este análisis se desprende que el conformero más estable sería el 5 OH-anti y que le seguirían el 10 OH-anti y el 10 OH-syn. Se observa que el orden de estabilidad cambia con respecto a AM1 y, además, los conformeros 10 OH-syn y 7 OH-syn no poseen la misma energía como ocurría en AM1. La diferencia en energía entre las conformaciones OH-anti y OH-syn sigue siendo de unos pocos kilojulios (1-3 kJ/mol), pero en PM3 se observa que para los conformeros 9 y 12 las conformaciones OH-syn son más estables que las OH-anti.

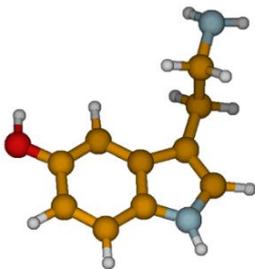
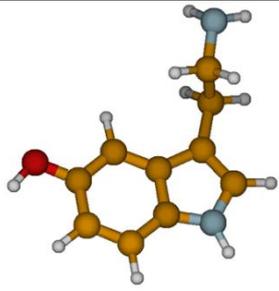
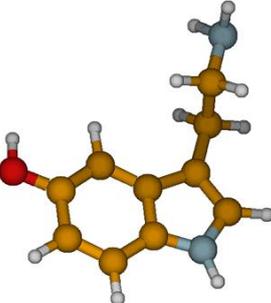
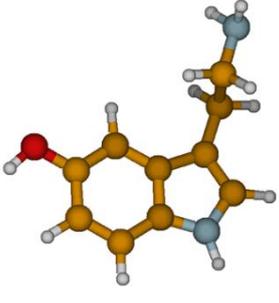
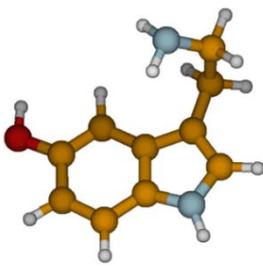
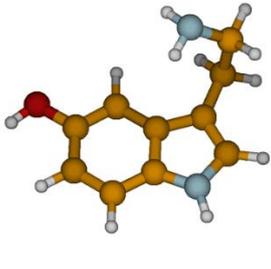
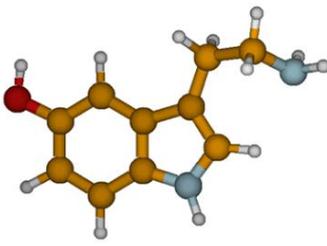
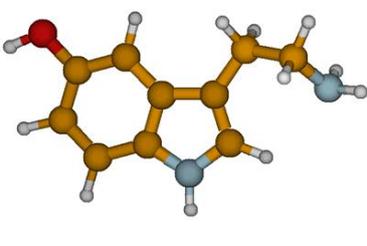
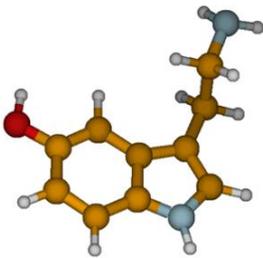
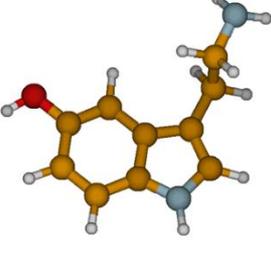
Los métodos semiempíricos AM1 y PM3 no son lo suficientemente buenos, puesto que no tienen en cuenta las interacciones intramoleculares dentro de la serotonina, como las que se dan entre el grupo amino y la nube electrónica  $\pi$  del indol. Además, parece que tienden a sobreestimar la estabilidad relativa de los conformeros con el par solitario del grupo  $\text{NH}_2$  en la posición "up"<sup>[8]</sup>. A pesar de que no son métodos muy fiables para localizar los mínimos en la superficie de energía potencial de estas moléculas, sirven como primera aproximación y dichas estructuras se pueden re-optimizar mediante métodos más potentes.

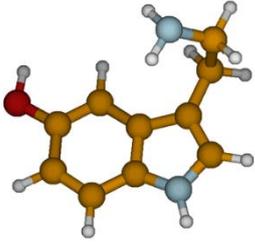
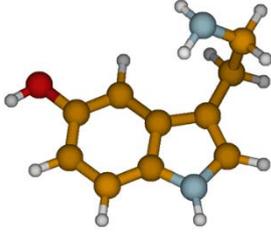
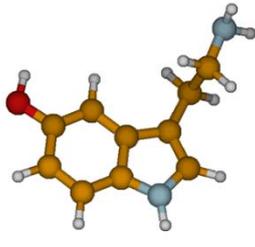
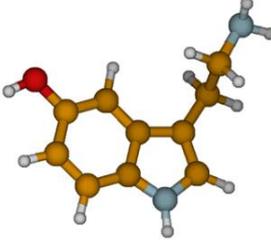
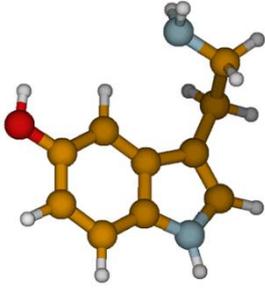
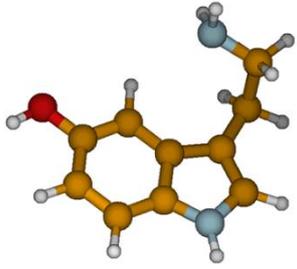
## 5.2 - Re-optimización mediante Gaussian en vacío

A fin de obtener una mejor aproximación, se realiza un cálculo más potente, con el método DFT (teoría del funcional de la densidad) y el funcional M05-2X y la base 6-311++G(d,p), sobre las estructuras obtenidas en el apartado anterior y se obtuvieron las siguientes estructuras:

Tabla 4. Estructuras de los 24 mínimos estables de la serotonina en vacío después de la optimización mediante el método DFT M05-2X/6-311++G(d,p).

Confórmero	Nomenclatura	OH-anti	OH-syn
1	Gpy(out)		
2	Gph(out)		
3	Gpy(up)		
4	Anti(ph)		

5	Anti(up)		
6	Anti(py)		
7	Gph(up)		
8	Gpy(in)		
9			

10	Gph(up)		
11			
12	Gph(in)		

Lo primero que llama la atención es que la estructura del conformero 10 cambia y pasa a ser idéntica a la del conformero 7. Esto es debido a que la barrera energética que los separa es tan pequeña que el conformero 10 converge al 7.

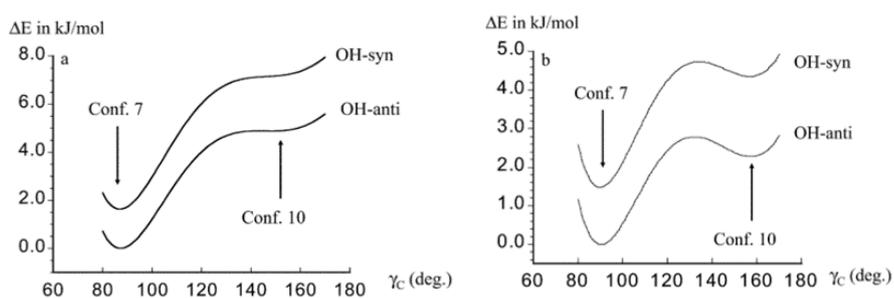


Figura 13. Escáner de la energía a través del ángulo diedro  $\gamma_C$  según el estudio de van Mourik et al.

para: (a) SCF/73-21G\*; (b) SCF/6-31G\*. Referencia tomada de: [8].

Además, estos dos conformeros son muy similares puesto que ambos en la terminología de Carney y Zwier son Gph(up) y mayormente sólo difieren en el ángulo diedro  $\gamma_C$ , que para el conformero 7 es  $90^\circ$  y para el conformero 10 es  $150^\circ$ .

También se observa que los confórmeros 9 y 10 poseen la cadena aminoetil en el plano del indol y, además, el confórmero 9 posee simetría  $C_s$ . Para los confórmeros 1 y 2 el par electrónico solitario del grupo  $NH_2$  está orientado hacia afuera del anillo indólico y uno de los hidrógenos de dicho grupo está orientado hacia la nube electrónica  $\pi$  del indol proporcionando un efecto estabilizante. Los confórmeros 8 y 12 poseen el par electrónico solitario del grupo amino orientado hacia la nube electrónica  $\pi$  del anillo indólico. Además, para el confórmero 8 se formaría un anillo distorsionado, lo que situaría al nitrógeno del grupo amino en el plano indólico y esto disminuiría el efecto desestabilizador de la repulsión entre el par electrónico solitario y la nube electrónica  $\pi$  y proporcionaría una estabilización debido a la interacción  $CH\cdots N$ . Debido a este efecto el confórmero 8 es más estable que el confórmero 12 y esto se podrá observar a continuación en los datos energéticos. Este efecto también se observa para el confórmero 11 que contiene una interacción  $CH\cdots N$  y, por ello, es más estable que el confórmero 12.

Dicha re-optimización a vacío proporcionó la siguiente energética:

- Energías sin correcciones, E, y energías relativas,  $\Delta E$ , en kJ/mol

Tabla 5. Energías sin corregir absoluta y relativa de cada mínimo estable mediante la optimización en vacío con

*DFT M05-2X/6-311++G(d,p).*

Nombre	Confórmero	E (kJ/mol)	$\Delta E$ (kJ/mol)
<b>Gpy(out)</b>	<b>1-anti</b>	-1504699,97	0,55
	<b>1-syn</b>	-1504698,39	2,12
<b>Gph(out)</b>	<b>2-anti</b>	-1504700,51	0,00
	<b>2-syn</b>	-1504695,80	4,71
<b>Gpy(up)</b>	<b>3-anti</b>	-1504698,73	1,78
	<b>3-syn</b>	-1504696,94	3,57

<b>Anti(ph)</b>	<b>4-anti</b>	-1504694,39	6,12
	<b>4-syn</b>	-1504691,98	8,53
<b>Anti(up)</b>	<b>5-anti</b>	-1504693,88	6,63
	<b>5-syn</b>	-1504692,34	8,17
<b>Anti(py)</b>	<b>6-anti</b>	-1504693,76	6,75
	<b>6-syn</b>	-1504692,51	8,00
<b>Gph(up)</b>	<b>7-anti</b>	-1504696,56	3,95
	<b>7-syn</b>	-1504695,46	5,05
<b>Gpy(in)</b>	<b>8-anti</b>	-1504693,25	7,26
	<b>8-syn</b>	-1504691,96	8,55
	<b>9-anti</b>	-1504693,88	6,63
	<b>9-syn</b>	-1504692,34	8,17
<b>Gph(up)</b>	<b>10-anti</b>	-1504696,57	3,95
	<b>10-syn</b>	-1504695,46	5,05
	<b>11-anti</b>	-1504694,39	6,12
	<b>11-syn</b>	-1504691,98	8,53
<b>Gph(in)</b>	<b>12-anti</b>	-1504688,66	11,86
	<b>12-syn</b>	-1504684,24	16,27

De estos datos se desprende que la estructura más estable sería Gph(out) con el grupo OH en posición anti y a esta le siguen Gpy(out) y Gpy(up) también con el grupo OH en posición anti. Se observa también que las diferencias entre la conformación OH-anti y OH-syn son muy próximas en energía, pero la conformación OH-anti es en todos los

casos la de menor energía. Se puede observar también que los confórmeros 7 y 10 coinciden en energías tanto para la conformación OH-anti como para OH-syn.

Si comparamos estos resultados con los obtenidos por van Mourik et al.<sup>[8]</sup> mostrados en la siguiente figura (ver Figura 14), se puede observar que el confórmero 1, Gpy(out)/anti, es el confórmero más estable y que se toma como cero para las energías relativas en el caso de la energía sin correcciones,  $E_e$ , y la energía corregida mediante  $Z_{pe}$ ,  $E_0$ .

Conformer	OH- <i>anti</i>		OH- <i>syn</i>	
	$\Delta(E_e)$	$\Delta(E_0)^a$	$\Delta(E_e)$	$\Delta(E_0)^a$
1	0.00	0.00	1.43	1.15
2	0.42	0.80	4.59	3.10
3	1.12	0.81	2.57	0.78
4	2.62	1.98	4.79	2.54
5	2.64	1.89	3.86	1.63
6	3.38	2.66	4.32	2.19
7	3.97	3.67	4.76	3.11
8	5.08	4.92	6.21	4.58
9	5.40	4.68	6.66	4.46
10	6.02	5.84		
11	6.15	5.45	7.71	5.27
12	8.77	8.73	13.23	10.95

<sup>a</sup> Zero-point energy corrections from B3LYP/6-31+G\* calculations. The zero-point energies are scaled by a factor of 0.9603.

Figura 14. Energías relativas en kJ/mol de los confórmeros de la serotonina mediante B3LYP/6-31+G\*.

Referencia tomada de: [8].

Para el caso de las energías sin correcciones, no coincide el mínimo más estable puesto que según el presente estudio realizado sería el confórmero 2 (Gph(out)) mientras que para el estudio realizado por van Mourik et al.<sup>[8]</sup> sería el confórmero 1 (Gpy(out)). Sin embargo, y como se verá en la siguiente tabla (ver Tabla 6), en el caso de las energías corregidas mediante la energía del punto cero, el mínimo más estable sí que coincide y sería el confórmero 1 (Gpy(out)). Cabe recalcar que dicho estudio se ha realizado utilizando un método y base distintos, B3LYP/6-31+G en el caso de van Mourik et al.<sup>[8]</sup>, y DFT M05-2X/6-311++G(d,p) en el presente trabajo. Además, esta tabla de datos de van Mourik et al.<sup>[8]</sup> está llena de resultados inconsistentes, puesto que ellos mismos predicen que la conformación OH-anti debe ser más estable que la OH-syn en todos los casos, pero se puede ver que en algunos casos ocurre lo contrario llegando a estabilizarse más con la corrección de  $Z_{pe}$  la configuración OH-syn y, por lo tanto, llegando a ser incluso más estable que la OH-anti. Dichos cálculos también predicen que

el conformero Gpy(out), el cual es el mínimo global de la triptamina, retiene su estatus en la serotonina, pero más adelante se verá que no es así.

- Energías corregidas con la energía del punto cero,  $E_0$ , y sus energías relativas,  $\Delta E_0$ , en kJ/mol

Tabla 6. Energías absoluta y relativa corregidas mediante la energía en el punto cero para cada conformero en vacío mediante DFT M05-2X/6-311++G(d,p).

Nombre	Conformero	$E_0$ (kJ/mol)	$\Delta E_0$ (kJ/mol)
Gpy(out)	1-anti	-1504146,91	0,00
	1-syn	-1504145,80	1,10
Gph(out)	2-anti	-1504146,44	0,46
	2-syn	-1504142,84	4,06
Gpy(up)	3-anti	-1504146,55	0,36
	3-syn	-1504144,69	2,22
Anti(ph)	4-anti	-1504141,00	5,91
	4-syn	-1504139,61	7,29
Anti(up)	5-anti	-1504140,75	6,16
	5-syn	-1504139,96	6,95
Anti(py)	6-anti	-1504140,66	6,24
	6-syn	-1504140,12	6,79
Gph(up)	7-anti	-1504142,90	4,00
	7-syn	-1504142,06	4,84
Gpy(in)	8-anti	-1504139,20	7,70
	8-syn	-1504138,78	8,13

	<b>9-anti</b>	-1504140,73	6,17
	<b>9-syn</b>	-1504139,98	6,93
<b>Gph(up)</b>	<b>10-anti</b>	-1504142,90	4,01
	<b>10-syn</b>	-1504142,13	4,77
	<b>11-anti</b>	-1504140,99	5,92
	<b>11-syn</b>	-1504139,63	7,27
<b>Gph(in)</b>	<b>12-anti</b>	-1504135,07	11,84
	<b>12-syn</b>	-1504131,81	15,10

En este caso, se observa que el confórmero más estable es el Gpy(out) en la conformación OH-anti y le siguen muy de cerca Gpy(up) y Gph(out) también en las conformaciones OH-anti. Las diferencias entre OH-anti y OH-syn siguen siendo muy pequeñas y la conformación OH-anti sigue siendo la más estable.

Si se comparan estos datos con los obtenidos por Srivastava et al.<sup>[5]</sup>, los cuales se muestran a continuación, se puede observar que el mínimo más estable a nivel MP2 no coincide con el que se obtiene, aunque sí coincidiría con el de la anterior tabla de las energías sin corregir (ver Tabla 5).

S. no.	Description of the ethylamine side chain	Tryptamine, <sup>b</sup> MP2/6-311++G(d,p)	Serotonin, MP2/6-311++G(d,p)		Serotonin, MP2/aug-cc-pVDZ	
			<i>anti</i> -5-OH	<i>syn</i> -5-OH	<i>anti</i> -5-OH	<i>syn</i> -5-OH
1	Gph(out)	1.63	0.00 (3.5547)	4.49 (3.9880)	0.00 (3.4172)	3.73 (3.9979)
2	Gpy(out)	0.00	0.10 (1.4270)	1.47 (2.8797)	0.48 (1.3292)	1.95 (2.8762)
3	Gpy(up)	1.50	1.12 (3.1864)	2.91 (4.2897)	2.73 (3.1398)	4.36 (3.9313)
4	Gph(up)	3.64	4.22 (2.7530)	5.77 (3.8973)	4.84 (2.7505)	5.86 (3.7228)
5	<i>Anti</i> (ph)	5.68	5.51 (3.5572)	8.32 (3.9954)	6.80 (3.4409)	8.86 (3.9532)
6	<i>Anti</i> (py)	5.77	6.27 (1.4570)	7.53 (2.8894)	7.58 (1.4012)	8.61 (2.8561)
7	<i>Anti</i> (up)	5.98	6.31 (3.1457)	7.85 (4.0994)	7.51 (3.0790)	8.78 (3.7923)
8	Gpy(in)	8.28	9.14 (3.5410)	10.60 (2.5610)	9.95 (3.5410)	11.22 (2.5610)
9	Gph(in)	13.04	11.21 (3.7612)	14.25 (2.5228)	12.61 (3.7612)	14.71 (2.5228)
10	Conf. 9 <sup>c</sup>	—	11.99 (1.1419)	13.45 (2.9182)	—	—
11	Conf. 10 <sup>c</sup>	—	4.20 (2.7525)	5.77 (3.8963)	—	—
12	Conf. 11 <sup>c</sup>	—	12.38 (3.1694)	14.11 (3.5774)	—	—

<sup>a</sup> Zero-point corrections use the DFT B3LYP/6-311++G(d,p) and aug-cc-pVDZ harmonic frequencies respectively. <sup>b</sup> From ref. 45. <sup>c</sup> From ref. 11.

Figura 15. Energías relativas corregidas mediante la energía en el punto cero en kJ/mol y momentos dipolares (*D*) en paréntesis para los confórmeros de la serotonina a los niveles de teoría MP2/6-311++G(d,p) y

MP2/aug-cc-pVDZ. Referencia tomada de: [5].

Según el estudio de Srivastava et al.<sup>[5]</sup>, la introducción del grupo hidroxilo en la triptamina para dar lugar a la serotonina resulta en una estabilización de la conformación OH-anti y en una desestabilización de la OH-syn. Y la mayor estabilización se produciría para el confórmero Gph(out)/anti, a nivel MP2, y ella está mayormente causada por efectos electrónicos transmitidos a través del sistema de anillos fusionados hacia la cadena aminoetil. Dicha estabilización se asocia específicamente a la orientación OH-anti y no se observa para otros confórmeros. Sin embargo, en dicho trabajo se menciona el estudio de LeGreve et al.<sup>[7]</sup> en el cual se concluye que el cálculo a nivel MP2 parece sobreestimar la estabilidad del confórmero Gph(out)/anti y que el orden de estabilidad sería Gpy(out)/anti seguido de Gph(out)/anti y Gpy(up)/anti, cuyo mínimo más estable coincidiría con el aquí obtenido. Y según Srivastava et al.<sup>[5]</sup> a nivel B3LYP/6-311++G(d,p) y B3LYP/aug-cc-pVDZ el mínimo estable sería Gpy(out)/anti y le seguirían Gpy(up)/anti y Gph(out)/anti, lo cual estaría en concordancia con lo obtenido en el presente trabajo.

S. no.	Description of the ethylamine side chain	Tryptamine, <sup>a</sup> B3LYP/6-311++G(d,p)	Serotonin, B3LYP/6-311++G(d,p)		Serotonin, B3LYP/aug-cc-pVDZ	
			<i>anti</i> -5-OH	<i>syn</i> -5-OH	<i>anti</i> -5-OH	<i>syn</i> -5-OH
1	Gph(out)	2.38	1.07 (3.2219)	4.07 (3.7671)	1.03 (3.0694)	3.67 (3.6118)
2	Gpy(out)	0.00	0.00 (1.2503)	0.76 (2.7944)	0.00 (1.2191)	0.70 (2.6650)
3	Gpy(up)	0.88	0.57 (2.9144)	1.49 (3.8737)	0.77 (2.7854)	1.60 (3.6585)
4	Gph(up)	3.55	3.56 (2.4814)	3.97 (3.6515)	3.84 (2.4160)	4.17 (3.4901)
5	<i>Anti</i> (ph)	2.63	1.60 (3.2526)	2.84 (3.7773)	1.05 (3.1181)	2.33 (3.6081)
6	<i>Anti</i> (py)	2.63	2.21 (1.3352)	2.55 (2.7712)	1.76 (1.2749)	2.11 (2.6138)
7	<i>Anti</i> (up)	2.34	1.51 (2.8270)	2.13 (3.6515)	1.35 (2.7072)	2.01 (3.4670)
8	Gpy(in)	4.89	5.11 (3.2144)	5.37 (2.2588)	4.53 (3.0299)	5.05 (2.1336)
9	Gph(in)	10.62	8.37 (3.4308)	11.22 (2.4161)	8.51 (3.2628)	10.68 (2.2810)
10	Conf. 9 <sup>b</sup>	—	4.22 (0.9963)	4.63 (2.7356)	3.23 (0.9674)	3.99 (2.5717)
11	Conf. 10 <sup>b</sup>	—	5.39 (1.1272)	3.96 (3.6512)	4.78 (0.9475)	4.17 (3.4900)
12	Conf. 11 <sup>b</sup>	—	4.65 (3.2005)	5.38 (3.6449)	3.28 (3.0464)	4.31 (3.4675)

<sup>a</sup> From ref. 45. <sup>b</sup> From ref. 11.

Figura 16. Energías relativas corregidas mediante la energía en el punto cero en kJ/mol y momentos dipolares (*D*) en paréntesis para los confórmeros de la serotonina a los niveles de teoría B3LYP/6-311++G(d,p) y B3LYP/aug-cc-pVDZ. Referencia tomada de: [5].

En el trabajo de Srivastava et al.<sup>[5]</sup> también se puede encontrar una tabla, que se muestra a continuación, de energías relativas a diferentes niveles en la cual se puede observar que el mínimo estable varía de Gph(out)/anti a Gpy(out)/anti de unos niveles a otros.

Conformer	$E_{rel}^{CCSDb}$	$E_{rel}^{MP2}$	$E_{rel}^{M06-2X}$	$E_{rel}^{M05-2X}$	$E_{rel}^{\omega B97X-D}$	$E_{rel}^{M06}$	$E_{rel}^{X3LYP}$	$E_{rel}^{B3LYP-D3c}$	$E_{rel}^{B3LYP}$	$E_{rel}^{B3PW91}$	$E_{rel}^{TPSSH}$	$E_{rel}^{CC2c}$
A	1.58 (1.3828)	0.48 (1.3292)	1.00 (1.1703)	0.13 (1.1853)	0.23 (1.1134)	<b>0.00</b> (1.1449)	<b>0.00</b> (1.2174)	0.72 (1.2230)	<b>0.00</b> (1.2191)	<b>0.00</b> (1.1963)	<b>0.00</b> (1.1967)	0.81
B	3.26 (3.3745)	2.73 (3.1398)	2.33 (2.8046)	1.31 (2.8565)	0.57 (2.7993)	1.21 (2.6799)	0.87 (2.7929)		0.77 (2.7854)	0.41 (2.7545)	0.46 (2.7693)	1.62
C	<b>0.00</b> (3.6153)	<b>0.00</b> (3.4172)	<b>0.00</b> (3.0793)	<b>0.00</b> (3.1865)	<b>0.00</b> (3.0695)	<b>0.00</b> (2.9575)	<b>0.00</b> (3.0659)	0.83 (3.1533)	<b>0.00</b> (3.0694)	1.03 (3.0445)	1.14 (3.0897)	<b>0.00</b>
D	9.52 (1.4006)	7.58 (1.4012)	6.09 (1.1898)	5.09 (1.2560)	4.68 (1.1721)	4.10 (1.1323)	1.99 (1.2673)		1.76 (1.2749)	2.30 (1.2482)	2.76 (1.2654)	9.38
E	7.45 (3.2999)	7.51 (3.0790)	5.88 (2.7939)	4.74 (2.8431)	4.00 (2.7595)	4.37 (2.6568)	1.63 (2.7250)		1.35 (2.7072)	1.64 (2.6713)	2.01 (2.7169)	8.50
F	3.78 (3.2202)	1.95 (2.8762)	2.09 (2.7296)	1.14 (2.7704)	1.19 (2.7195)	0.97 (2.6796)	0.72 (2.6748)		0.70 (2.6650)	0.78 (2.6930)	0.76 (2.6842)	3.09
G	4.47 (4.3264)	4.36 (3.9313)	3.54 (3.6910)	2.46 (3.7323)	1.68 (3.6935)	2.30 (3.5939)	1.71 (3.6662)		1.60 (3.6585)	1.30 (3.6460)	1.33 (3.6410)	4.14
H	5.77 (4.3486)	3.73 (3.9979)	3.41 (3.6508)	3.34 (3.7958)	3.20 (3.6410)	3.37 (3.5405)	3.52 (3.6116)		3.67 (3.6118)	3.86 (3.6287)	3.64 (3.6571)	5.38

<sup>a</sup> Zero-point corrected energies at the MP2, M06-2X, M05-2X,  $\omega$ B97X-D, M06, X3LYP, B3LYP, B3PW91 and TPSSH optimized geometries as well as for CCSD single-point energies were obtained by including the zero-point corrections from B3LYP/aug-cc-pVDZ and the CC2 and B3LYP-D3 optimized geometries were corrected from DFT B3LYP/def-TZVP harmonic frequencies. <sup>b</sup> Single-point energy calculation with basis set 6-31+G(d). <sup>c</sup> Optimized using the basis set def-TZVP.

Figura 17. Energías relativas corregidas mediante la energía en el punto cero en kJ/mol y momentos dipolares ( $D$ ) en paréntesis para los 8 conformeros de la serotonina experimentalmente observados a los niveles aug-cc-pVDZ. Referencia tomada de: [5].

Donde llama a los conformeros A, B, C, D, E, F, G y H a los que se ilustra a continuación:

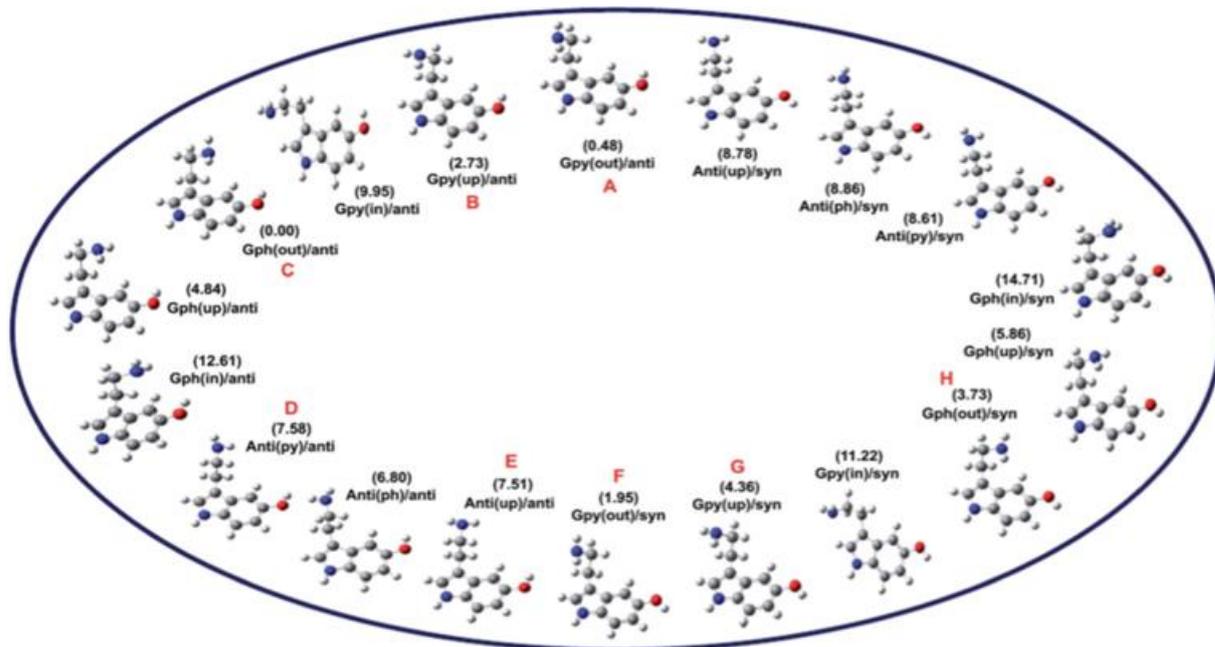


Figura 18. Estructuras optimizadas de los 18 conformeros más estables de la serotonina mediante el nivel de teoría MP2/aug-cc-pVDZ. Referencia tomada de: [5].

De dicha tabla se extrae las siguientes conclusiones:

- Para MP2, CC2, CCSD, M06-2X,  $\omega$ B97X-D y B3LYP-D3 se estabiliza preferentemente el conformero Gph(out)/anti frente a Gpy(out) y Gpy(up).

- Los órdenes de energía obtenidos mediante DFT empleando los funcionales M06-2X y wB97XD y CC2 son similares a los obtenidos con MP2.
- Para los cálculos con DFT utilizando los funcionales X3LYP, B3LYP y B3PW91 el conformero Gpy(out)/anti es el más estable seguido del conformero Gph(out)/anti.

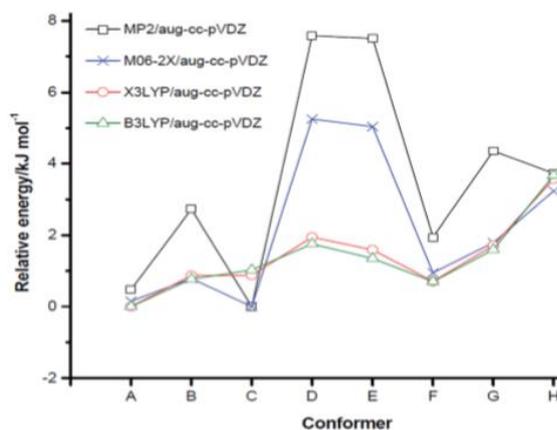


Figura 19. Comparación de las energías relativas de los conformeros de la serotonina de los niveles MP2, M06-2X, X3LYP y B3LYP. Referencia tomada de: [5].

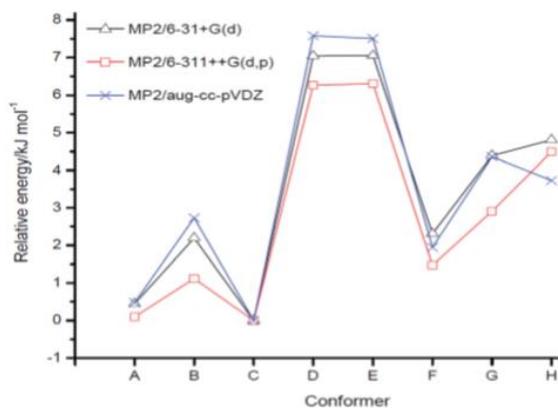


Figura 20. Comparación de las energías relativas de los conformeros de la serotonina a nivel MP2 empleando las bases 6-31+G(d), 6-311++G(d,p) y aug-cc-pVDZ. Referencia tomada de: [5].

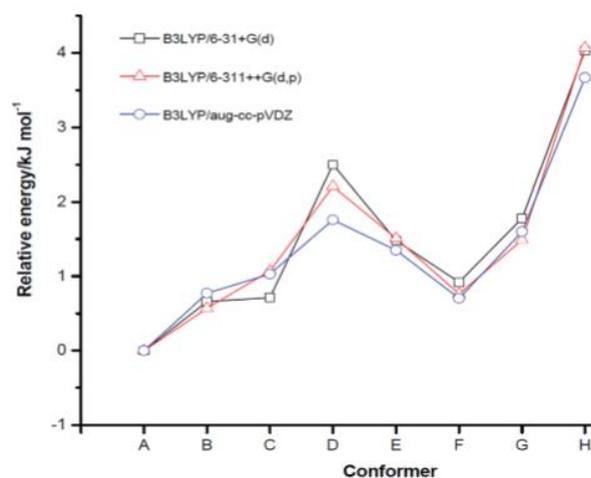


Figura 21. Comparación de las energías relativas de los conformeros de la serotonina a nivel B3LYP empleando las bases 6-31+G(d), 6-311++G(d,p) y aug-cc-pVDZ. Referencia tomada de: [5].

En el trabajo de Srivastava et al.<sup>[5]</sup> Se encontró que los cálculos con DFT empleando los funcionales M05-2X, M06-2X, wB97XD y B3LYP-3D con la dispersión corregida opera bien para las interacciones intramoleculares  $\text{NH}_2 \cdots \pi$ , las cuales son de especial relevancia en la serotonina.

- Energías corregidas térmicamente, Función de Gibbs (G) y sus energías relativas ( $\Delta G$ ) kJ/mol

Tabla 7. Energías absoluta y relativa corregidas térmicamente para cada conformero en vacío mediante DFT M05-2X/6-311++G(d,p).

Nombre	Conformero	G (kJ/mol)	$\Delta G$ (kJ/mol)
<b>Gpy(out)</b>	<b>1-anti</b>	-1504246,06	0,51
	<b>1-syn</b>	-1504245,42	1,15
<b>Gph(out)</b>	<b>2-anti</b>	-1504244,15	2,42
	<b>2-syn</b>	-1504241,79	4,78
<b>Gpy(up)</b>	<b>3-anti</b>	-1504246,57	0,00
	<b>3-syn</b>	-1504244,64	1,93

<b>Anti(ph)</b>	<b>4-anti</b>	-1504240,79	5,78
	<b>4-syn</b>	-1504239,66	6,91
<b>Anti(up)</b>	<b>5-anti</b>	-1504240,16	6,41
	<b>5-syn</b>	-1504239,83	6,74
<b>Anti(py)</b>	<b>6-anti</b>	-1504240,36	6,21
	<b>6-syn</b>	-1504240,16	6,41
<b>Gph(up)</b>	<b>7-anti</b>	-1504241,30	5,27
	<b>7-syn</b>	-1504240,70	5,87
<b>Gpy(in)</b>	<b>8-anti</b>	-1504238,52	8,05
	<b>8-syn</b>	-1504238,51	8,06
	<b>9-anti</b>	-1504240,15	6,42
	<b>9-syn</b>	-1504239,86	6,71
<b>Gph(up)</b>	<b>10-anti</b>	-1504241,29	5,28
	<b>10-syn</b>	-1504240,82	5,75
	<b>11-anti</b>	-1504240,77	5,80
	<b>11-syn</b>	-1504239,70	6,87
<b>Gph(in)</b>	<b>12-anti</b>	-1504234,74	11,84
	<b>12-syn</b>	-1504231,46	15,11

En este caso la estructura más estable sería Gpy(up) en la conformación OH-anti y le siguen Gpy(out) primero en la conformación OH-anti y luego en OH-syn.

Se pueden observar tres grupos energéticos:

- a) Los conformeros 1, 2 y 3 que son muy cercanos en energía.

- b) Los conformeros 4 a 11 que se encuentran son 5-6 kJ/mol mayores en energía que el mínimo más estable.
- c) El conformero 12 que se encuentra muy alejado en energía del resto y, por lo tanto, es el menos estable de todos.

También se observa que la disposición OH-anti es más baja en energía que la OH-syn en una misma conformación y, además, para los conformeros 1, 2, 3 y 12 la disposición OH-syn se desestabiliza mucho y para el resto la diferencia entre anti y syn no llega a 1 kJ/mol.

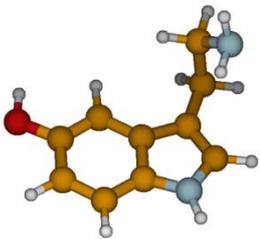
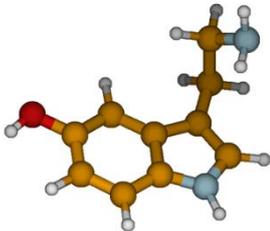
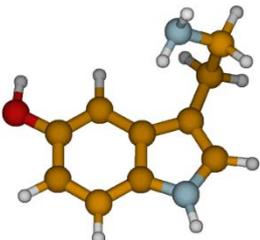
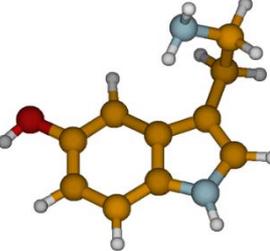
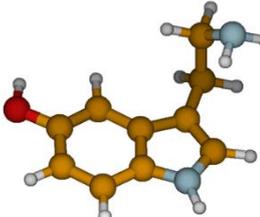
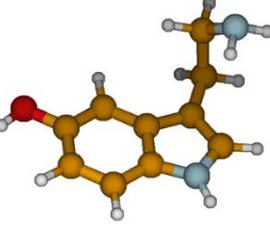
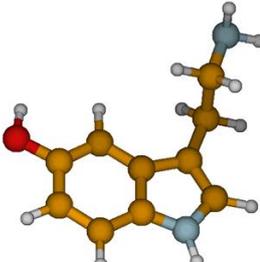
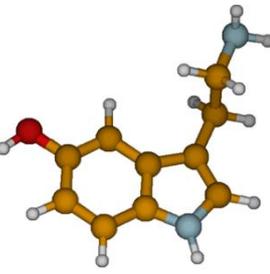
Por último, llama realmente la atención que para el conformero 8 la disposición OH-anti y syn coinciden en energía. Además, los conformeros 7 y 10 que convergen en estructura, se ve claramente que poseen distintos valores de la función de Gibbs, G.

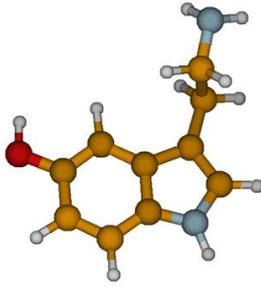
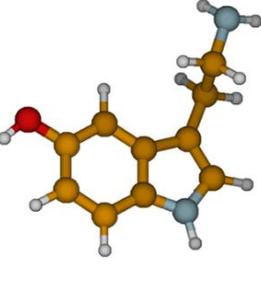
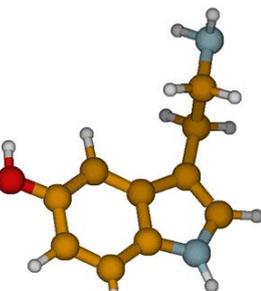
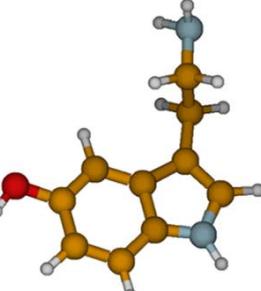
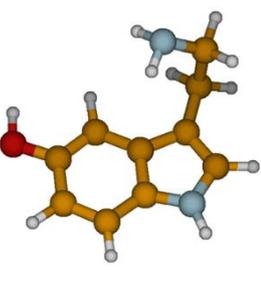
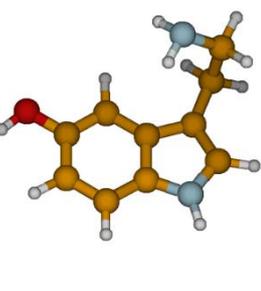
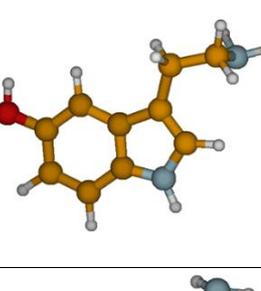
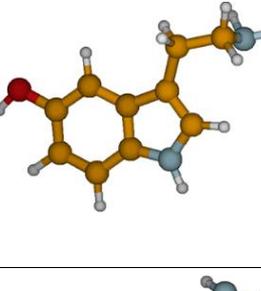
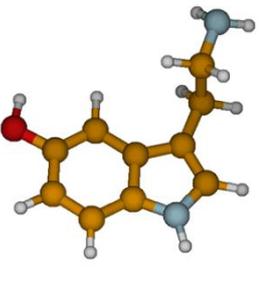
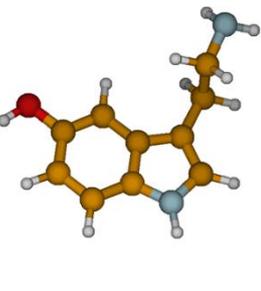
A la vista de los datos obtenidos para el caso del estudio conformacional a vacío, lo que más llama la atención es el cambio de conformero más estable y se observa que los tres conformeros más bajos en energía tienen una diferencia energética muy próxima entre sí. Además, con la corrección de la energía en el punto cero, la diferencia energética decrece, menos para los que tienen configuración Gph/anti, excepto Gph(in). Para las correcciones térmicas, ocurre algo similar, las diferencias en energía decrecen, menos los que poseen configuración Gph que aumentan su energía. En todos los casos, el conformero 12 es el que alcanza los valores más altos, por lo que es el menos estable de todos y se aleja bastante de los valores del resto.

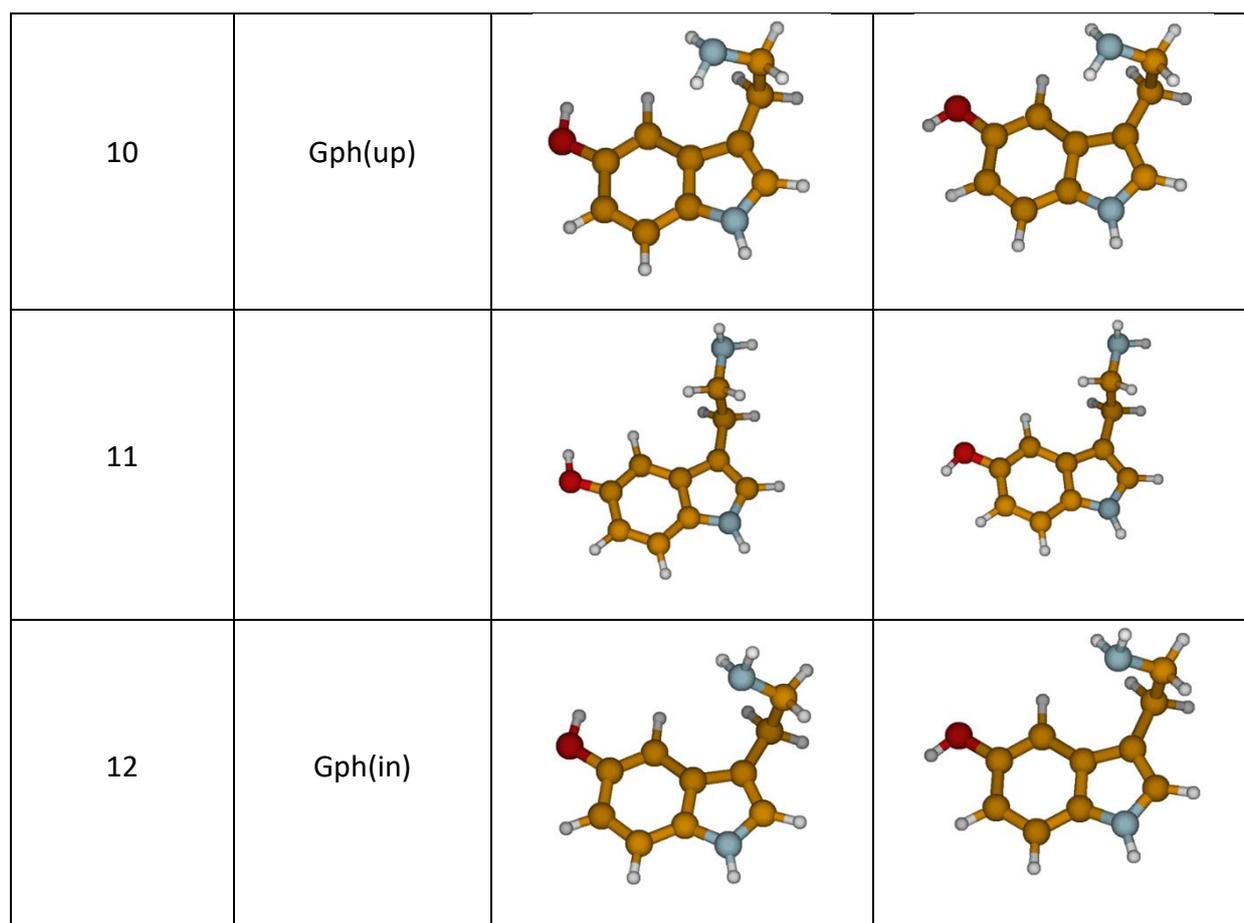
### 5.3 - Re-optimización mediante Gaussian en solución

Como lo que se trata de estudiar en el presente trabajo es la actividad antioxidante de la serotonina en medio fisiológico, se hace el cálculo de la energética de los 24 conformémeros en solución dando lugar a los siguientes datos:

Tabla 8. Estructuras de los 24 mínimos estables de la serotonina en solución después de la optimización mediante el método DFT M05-2X/6-311++G(d,p).

Confórmero	Nomenclatura	OH-anti	OH-syn
1	Gpy(out)		
2	Gph(out)		
3	Gpy(up)		
4	Anti(ph)		

5	Anti(up)		
6	Anti(py)		
7	Gph(up)		
8	Gpy(in)		
9			



Se observa que las estructuras no cambian a grandes rasgos con respecto a las estructuras que se obtuvieron para la re-optimización a vacío, por lo que los comentarios del apartado anterior sobre estas son extrapolables a este apartado.

- Energías sin correcciones, E, y sus energías relativas,  $\Delta E$ , en kJ/mol

Tabla 9. Energías sin corregir absoluta y relativa de cada mínimo estable mediante la optimización en solución con

*DFT M05-2X/6-311++G(d,p).*

Nombre	Confórmero	E (kJ/mol)	$\Delta E$ (kJ/mol)
Gpy(out)	1-anti	-1504766,07	2,41
	1-syn	-1504765,30	3,18
Gph(out)	2-anti	-1504763,00	5,48
	2-syn	-1504762,10	6,38

<b>Gpy(up)</b>	<b>3-anti</b>	-1504768,48	0,00
	<b>3-syn</b>	-1504767,69	0,79
<b>Anti(ph)</b>	<b>4-anti</b>	-1504762,69	5,79
	<b>4-syn</b>	-1504761,94	6,54
<b>Anti(up)</b>	<b>5-anti</b>	-1504765,11	3,37
	<b>5-syn</b>	-1504764,43	4,05
<b>Anti(py)</b>	<b>6-anti</b>	-1504762,68	5,80
	<b>6-syn</b>	-1504761,89	6,59
<b>Gph(up)</b>	<b>7-anti</b>	-1504766,46	2,02
	<b>7-syn</b>	-1504765,76	2,72
<b>Gpy(in)</b>	<b>8-anti</b>	-1504757,04	11,44
	<b>8-syn</b>	-1504756,21	12,27
	<b>9-anti</b>	-1504765,11	3,37
	<b>9-syn</b>	-1504764,43	4,05
<b>Gph(up)</b>	<b>10-anti</b>	-1504766,46	2,02
	<b>10-syn</b>	-1504765,76	2,72
	<b>11-anti</b>	-1504762,69	5,79
	<b>11-syn</b>	-1504761,94	6,54
<b>Gph(in)</b>	<b>12-anti</b>	-1504758,74	9,74
	<b>12-syn</b>	-1504758,09	10,39

Se observa que el confórmero Gpy(up) es el más estable de todos, siendo la conformación OH-anti más baja en energía que la OH-syn. Le seguirían en energía los confórmeros 7 y 10 y, además, estos poseen la misma energética tanto para la disposición OH-anti como syn. Los confórmeros 1, 2, 5, 6, 9 y 11 se encontrarían 3-6 kJ/mol más altas en energía que Gpy(up). Y, por último, los confórmeros 8 y 12 son los más alejados en energía, siendo el 8 el más alto en energía. Esto llama bastante la atención puesto que el confórmero 8 a vacío se estabiliza debido a la interacción CH $\cdots$ N y en este caso este confórmero es el más inestable de todos y ello se debe a que la disposición del grupo amino cambia ligeramente y entonces dicha interacción no se da.

- Energías corregidas con la energía del punto cero,  $E_0$ , y sus energías relativas,  $\Delta E_0$ , y kJ/mol

*Tabla 10. Energías absoluta y relativa corregidas mediante la energía en el punto cero para cada confórmero en solución mediante DFT M05-2X/6-311++G(d,p).*

<b>Nombre</b>	<b>Confórmero</b>	<b><math>E_0</math> (kJ/mol)</b>	<b><math>\Delta E_0</math> (kJ/mol)</b>
<b>Gpy(out)</b>	<b>1-anti</b>	-1504214,33	2,82
	<b>1-syn</b>	-1504212,91	4,24
<b>Gph(out)</b>	<b>2-anti</b>	-1504209,03	8,12
	<b>2-syn</b>	-1504208,02	9,13
<b>Gpy(up)</b>	<b>3-anti</b>	-1504217,15	0,00
	<b>3-syn</b>	-1504215,73	1,42
<b>Anti(ph)</b>	<b>4-anti</b>	-1504210,32	6,83
	<b>4-syn</b>	-1504210,48	6,67
<b>Anti(up)</b>	<b>5-anti</b>	-1504211,94	5,21
	<b>5-syn</b>	-1504212,13	5,02

<b>Anti(py)</b>	<b>6-anti</b>	-1504210,09	7,06
	<b>6-syn</b>	-1504210,11	7,04
<b>Gph(up)</b>	<b>7-anti</b>	-1504212,97	4,18
	<b>7-syn</b>	-1504212,26	4,89
<b>Gpy(in)</b>	<b>8-anti</b>	-1504205,16	11,99
	<b>8-syn</b>	-1504204,81	12,34
	<b>9-anti</b>	-1504211,94	5,21
	<b>9-syn</b>	-1504212,13	5,02
<b>Gph(up)</b>	<b>10-anti</b>	-1504212,97	4,18
	<b>10-syn</b>	-1504212,26	4,89
	<b>11-anti</b>	-1504210,32	6,83
	<b>11-syn</b>	-1504210,48	6,67
<b>Gph(in)</b>	<b>12-anti</b>	-1504205,92	11,23
	<b>12-syn</b>	-1504205,02	12,13

Se observa que el conformero más estable vuelve a ser Gpy(up) y que sus conformaciones OH-anti y OH-syn están muy próximas en energía, pero sigue siendo la disposición anti la de menor energía. A este le seguiría en energía el conformero 1 y los conformeros 7 y 10 que en este caso sólo coinciden en energética la disposición OH-syn, puesto que para OH-anti el conformero 7 es algo menor en energía que el 10.

Los conformeros 4, 5, 6, 9 y 11 se encuentran 5-7 kJ/mol por encima del mínimo más estable y los conformeros 2, 8 y 12 son los que se encuentran más alejados en energía, siendo el 8 el que más se aleja al igual que para las energías sin correcciones. Además, llama especialmente la atención la gran desestabilización del conformero 2, puesto que

en vacío este era el conformero más estable de las energías corregidas mediante la energía en el punto cero,  $Z_{pe}$ .

- Energías corregidas térmicamente, Función de Gibbs (G), y sus energías relativas ( $\Delta G$ ) en kJ/mol

Tabla 11. Energías absoluta y relativa corregidas térmicamente para cada conformero en solución mediante

DFT M05-2X/6-311++G(d,p).

Nombre	Conformero	G (kJ/mol)	$\Delta G$ (kJ/mol)
<b>Gpy(out)</b>	<b>1-anti</b>	-1504312,90	3,23
	<b>1-syn</b>	-1504310,90	5,24
<b>Gph(out)</b>	<b>2-anti</b>	-1504305,52	10,62
	<b>2-syn</b>	-1504304,43	11,70
<b>Gpy(up)</b>	<b>3-anti</b>	-1504316,14	0,00
	<b>3-syn</b>	-1504314,13	2,00
<b>Anti(ph)</b>	<b>4-anti</b>	-1504309,94	6,20
	<b>4-syn</b>	-1504310,23	5,90
<b>Anti(up)</b>	<b>5-anti</b>	-1504309,89	6,25
	<b>5-syn</b>	-1504310,39	5,75
<b>Anti(py)</b>	<b>6-anti</b>	-1504309,18	6,95
	<b>6-syn</b>	-1504309,61	6,52
<b>Gph(up)</b>	<b>7-anti</b>	-1504310,85	5,29
	<b>7-syn</b>	-1504310,34	5,79
<b>Gpy(in)</b>	<b>8-anti</b>	-1504305,25	10,88

<b>Gpy(in)</b>	<b>8-syn</b>	-1504305,22	10,92
	<b>9-anti</b>	-1504309,89	6,25
	<b>9-syn</b>	-1504310,38	5,75
<b>Gph(up)</b>	<b>10-anti</b>	-1504310,84	5,30
	<b>10-syn</b>	-1504310,34	5,79
	<b>11-anti</b>	-1504309,94	6,20
	<b>11-syn</b>	-1504310,23	5,91
<b>Gph(in)</b>	<b>12-anti</b>	-1504303,78	12,36
	<b>12-syn</b>	-1504302,99	13,15

Al realizar las correcciones térmicas también se observa que el confórmero más estable es el Gpy(up), cuya disposición OH-anti es más baja en energía que la OH-syn, a pesar de que ambas se encuentren muy próximas en energía. Le sigue en energía el confórmero 1, al igual que para las energías corregidas mediante la energía en el punto cero.

A 5-6 kJ/mol por encima del mínimo más estable se encuentran los confórmeros 4, 5, 6, 7, 9, 10 y 11. Además, en este caso también ocurre que para los confórmeros 7 y 10 la disposición OH-syn coincide, pero la anti es algo más baja para el confórmero 7 que para el 10. Los confórmeros 2, 8 y 12 vuelven a ser los que más se alejan en energía, pero esta vez es el confórmero 12 el más inestable de todos.

Como observación final a la vista de los datos energéticos obtenidos, en el caso del estudio conformacional en solución el confórmero más estable se mantiene. Además, se observa que con las correcciones de la energía en el punto cero y las térmicas, crece más la diferencia de energía con respecto al confórmero más estable y destaca bastante el aumento con respecto al confórmero Gph(out), el cual casi es el doble. Y al igual que en el análisis a vacío, el confórmero 12 es el que más se aleja de los valores del resto y, por lo tanto, es el menos estable de todos.

## 5.4 - Análisis poblacional Maxwell-Boltzmann

A fin de obtener una idea sobre las poblaciones relativas de los conformeros en vacío y solución, se aplicó la teoría de Maxwell-Boltzmann.

Siguiendo la siguiente ecuación donde  $\Delta G$  se tomó de las energías relativas obtenidas mediante corrección térmica, R es la constante universal de los gases ideales y T la temperatura a la cual se desarrolla el cálculo, es decir, a 298 K.

$$\frac{N_1}{N_0} = e^{-\frac{\Delta G}{RT}}$$

*Ecuación 12. Ecuación de la estadística poblacional de Maxwell-Boltzmann.*

La razón física de la distribución de Maxwell-Boltzmann es que, para una energía fija del sistema, todas las distribuciones de la energía total del sistema entre las moléculas tienen la misma probabilidad. La probabilidad de que una molécula tenga una energía dada es, por tanto, proporcional al número de maneras de distribuir el resto de la energía entre las otras moléculas<sup>[18]</sup>.

*Tabla 12. Distribución poblacional de los conformeros de la serotonina en vacío y solución.*

Nombre	Conformero	% en vacío	% en solución
<b>Gpy(out)</b>	<b>1-anti</b>	17,36	8,57
	<b>1-syn</b>	13,39	3,81
<b>Gph(out)</b>	<b>2-anti</b>	8,01	0,43
	<b>2-syn</b>	3,09	0,28
<b>Gpy(up)</b>	<b>3-anti</b>	21,30	31,64
	<b>3-syn</b>	9,77	14,09
<b>Anti(ph)</b>	<b>4-anti</b>	2,06	2,59
	<b>4-syn</b>	1,31	2,92

<b>Anti(up)</b>	<b>5-anti</b>	1,60	2,54
	<b>5-syn</b>	1,40	3,10
<b>Anti(py)</b>	<b>6-anti</b>	1,73	1,91
	<b>6-syn</b>	1,60	2,27
<b>Gph(up)</b>	<b>7-anti</b>	2,53	3,74
	<b>7-syn</b>	1,99	3,05
<b>Gpy(in)</b>	<b>8-anti</b>	0,82	0,39
	<b>8-syn</b>	0,82	0,38
	<b>9-anti</b>	1,59	2,53
	<b>9-syn</b>	1,42	3,10
<b>Gph(up)</b>	<b>10-anti</b>	2,52	3,73
	<b>10-syn</b>	2,09	3,05
	<b>11-anti</b>	2,05	2,59
	<b>11-syn</b>	1,33	2,91
<b>Gph(in)</b>	<b>12-anti</b>	0,18	0,21
	<b>12-syn</b>	0,05	0,16

Se puede observar que el confórmero Gpy(up)/anti es el más probable de todos tanto en vacío como en solución.

En el caso de los datos a vacío, el confórmero Gpy(up)/anti es el más probable de todos y, con unos valores significativos, le seguirían en orden las conformaciones Gpy(out)/anti, Gpy(out)/syn, Gph(out)/anti y Gpy(up)/syn. El resto de las conformaciones se encuentran con un 0-3% de probabilidad, los cuales no son valores muy significativos.

En el caso de los datos en solución, se puede observar como el conformero Gpy(up)/anti destaca bastante frente al resto, puesto que le seguiría en probabilidad la conformación Gpy(up)/syn, pero esta posee un valor correspondiente a la mitad del valor de Gpy(up)/anti. Y, a continuación, les seguiría el conformero Gpy(out) con un 8% y el resto se encuentran con un 0-3% de probabilidad.

Finalmente, como para ambos análisis conformacionales en vacío y solución se obtiene que el conformero Gpy(out)/anti es el mínimo más estable y probable, es el que se toma para el estudio de los mecanismos antioxidantes que se expone a continuación.

## 5.5 - Estudio de los mecanismos antioxidantes

Como la finalidad de este trabajo fin de grado es el estudio de la actividad antioxidante de la serotonina, en este último apartado se trata de dilucidar si los mecanismos antioxidantes son favorables para el caso de dicha molécula. Se sabe que la serotonina es una molécula capaz de combatir el estrés oxidativo que proviene del desequilibrio entre la producción y consumo de especies reactivas oxigenadas, las cuales, producen una gran variedad de enfermedades.

Debido a que los estudios acerca de los mecanismos antioxidantes de la serotonina son escasos, se decide basar este estudio en los obtenidos sobre la triptamina<sup>[25], [26]</sup>, puesto que ésta por su estructura es más próxima a la serotonina. Así pues, se estudia sobre la serotonina los mecanismos más probables que se dan en la triptamina.

La estructura del conformero elegido se muestra a continuación y este ha sido seleccionado conforme a los datos energéticos y estadísticos obtenidos y corresponde a la conformación Gpy(up)/anti. También se muestra la numeración asignada a cada átomo, la cual se toma también de forma similar a la de la triptamina, es decir, tomando la molécula con la cadena aminoetil hacia el fondo del plano (al contrario que en la figura) y se comienza a enumerar como N1 al nitrógeno del anillo pirrólico y a partir de este en sentido horario los carbonos que forman parte del anillo indólico y por último los carbonos correspondientes a la cadena aminoetil y el nitrógeno de esta sería el N2.

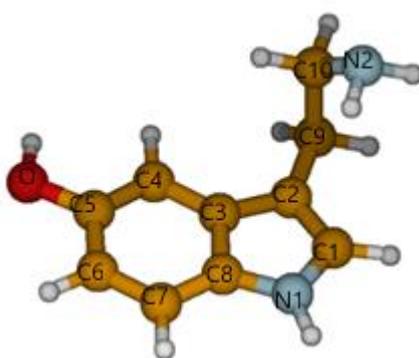


Figura 22. Numeración y estructura del conformero Gpy(up)/anti.

Los radicales que se toman son el radical hidroperoxilo ( $\cdot\text{OOH}$ ) y el radical hidroxilo ( $\cdot\text{OH}$ ) y se estudia la energética de los diferentes mecanismos para dilucidar si estos son energéticamente favorables y, por lo tanto, probables de que se produzcan en el medio fisiológico, o todo lo contrario. El radical hidroxilo es el más electrofílico y reactivo de los

radicales con centro de oxígeno y posee un tiempo de vida medio de  $\sim 10^{-9}$  s. Este puede ser formado mediante una reacción tipo Fenton, por recombinación Haber-Weis, por otros radicales formados por reacciones enzimáticas o también por reacciones de ionización o ultravioleta. Por el contrario, los radicales peroxilos son especies menos reactivas, sus tiempos de vida medios son del orden de segundos y su electrofilia no es tan alta como la del radical hidroxilo. Además, el radical hidroperoxilo, el elegido en este trabajo, es el más pequeño de la familia de los radicales peroxilos<sup>[27]</sup>.

Para ello, se sigue el mismo tratamiento que se dio a las estructuras de la serotonina, primero con Hyperchem se realiza una optimización mediante el método semiempírico PM3 de todas las estructuras de reactivos y productos que intervienen en los diferentes mecanismos estudiados y después se realiza la re-optimización con Gaussian mediante la Teoría del Funcional de la Densidad utilizando la base 6-311++G(d,p) y el funcional M05-2X. Dicho funcional ha sido recomendado por sus desarrolladores para la realización de cálculos cinéticos y, además, ha sido exitosamente utilizado por autores independientes y se ha demostrado que, en algunos casos, la correspondencia entre los resultados obtenidos mediante M05-2X y los resultados experimentales es mejor que cuando se utilizan métodos de funciones de onda altamente correlacionadas. A lo que se puede añadir que la exactitud de los resultados cinéticos obtenidos con este funcional para este tipo de reacciones radical-molécula ha sido comprobada en numerosas ocasiones mediante comparación con los resultados experimentales<sup>[27]</sup>.

Finalmente, las energías que se toman son las obtenidas en solución en la re-optimización y se encuentran corregidas térmicamente y la favorabilidad de los mecanismos se estudia mediante el balance energético ( $\Delta G$ ), es decir, restando la energía de los productos menos la energía de los reactivos. De esta forma si se obtiene un  $\Delta G < 0$ , indicará que es un proceso exergónico o espontáneo, aunque no quiere decir que vaya a transcurrir sin ningún problema, y, además, dicha reacción química libera energía en forma de luz, calor, etc. Y si por el contrario se obtiene un  $\Delta G > 0$ , indicará que es un proceso endergónico o no espontáneo y cuya reacción química es desfavorable de producirse.

### 5.5.1- Mecanismos antioxidantes sobre el radical hidroxilo

#### - Mecanismo SET (Single Electron Transfer):

En este mecanismo se produce la donación de un electrón de la capa más externa de la serotonina, es decir, de la capa de valencia, a la especie radicalaria y se formaría un radical catiónico, el cual estaría estabilizado por delocalización electrónica, y el anión correspondiente a la especie radicalaria, en este caso el anión hidroxilo.

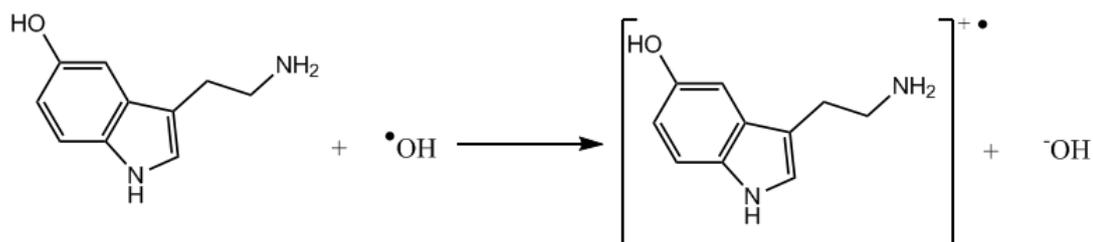


Figura 23. Esquema del mecanismo SET para el radical hidroxilo.

Las estructuras y energías de los productos y reactivos son las siguientes:

Tabla 13. Estructura y energía para cada especie que interviene en el mecanismo SET para el radical hidroxilo.

Estructura	G / (kJ/mol)
	-1504316,14
	-198918,12
	-1503781,50
	-199458,24

La viabilidad de este mecanismo se puede deducir mediante el balance energético,  $\Delta G$ , de productos y reactivos, es decir, restando la energía de los productos menos la energía de los reactivos de la siguiente forma:

$$\Delta G = [G(SER^{+\bullet}) + G(HO^-)] - [G(SER) + G(HO^\bullet)] = -5,48 \text{ kJ/mol}$$

Donde SER denota serotonina,  $SER^{+\bullet}$  la nueva especie radicalaria cargada formada,  $HO^-$  es el anión hidroxilo y  $HO^\bullet$  es el radical hidroxilo.

Se obtiene un resultado negativo característico de procesos exergónicos, es decir, cuando la reacción tiene lugar se produce un desprendimiento de energía. Este resultado indica que este mecanismo es favorable de producirse, aunque se forme una especie cargada.

- Mecanismo HAT (Hydrogen Atom Transfer):

En este mecanismo se produce la transferencia de un átomo de hidrógeno de la serotonina al radical hidroxilo mediante ruptura homolítica del enlace, lo cual formaría el correspondiente radical de la serotonina y este sería más estable que el radical hidroxilo, puesto a que se estabilizaría mediante delocalización del electrón impar. Por comparación con el estudio de la triptamina en el que resultó que los sitios más susceptibles de sufrir este mecanismo fueron el nitrógeno del anillo pirrólico y el carbono C9, se decide llevar a cabo los cálculos sobre esos mismos sitios y, además, también en el grupo hidroxilo.

En el *grupo hidroxilo* la ruptura homolítica tendría lugar en el enlace O-H del grupo hidroxilo de la molécula y el esquema sería el siguiente:

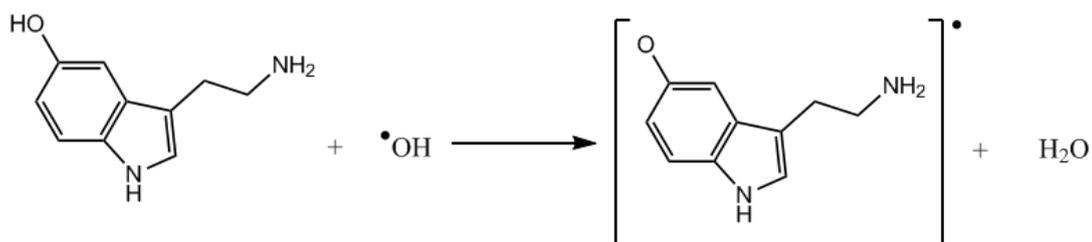
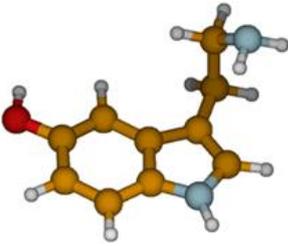
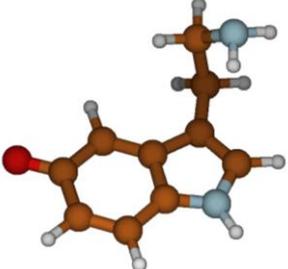
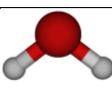


Figura 24. Esquema del mecanismo HAT en el grupo hidroxilo para el radical hidroxilo.

La estructura y energía corregida térmicamente para cada uno de los reactivos y productos son las siguientes:

Tabla 14. Estructura y energía para cada especie que interviene en el mecanismo HAT en el grupo hidroxilo para el radical hidroxilo.

Estructura	G / (kJ/mol)
	-1504316,14
	-198918,12
	-1502671,25
	-200726,94

En este mecanismo, al igual que en el mecanismo anterior, el parámetro que indica la facilidad con la que se produce es el balance energético de reactivos y productos y se calcula de la siguiente manera:

$$\Delta G = [G(SER(-H)) + G(H_2O)] - [G(HO^\bullet) + G(SER)] = -163,93 \text{ kJ/mol}$$

Donde, de aquí en adelante, para este mecanismo SER(-H) denota la especie formada por pérdida de un átomo de hidrógeno, SER es la serotonina, HO• el radical hidroxilo y H<sub>2</sub>O la molécula formada debido a la captación del átomo de hidrógeno por parte del radical.

Este resultado negativo indica que el proceso es exergónico, es decir, libera energía al medio y, por lo tanto, es favorable que se produzca. Además, como se podrá comprobar a continuación, este sitio es el más favorable de los tres en los que se estudia este mecanismo.

En el *nitrógeno N1* el esquema sería similar al anterior, pero esta vez la ruptura homolítica ocurre en el enlace N1-H del nitrógeno del anillo pirrólico:

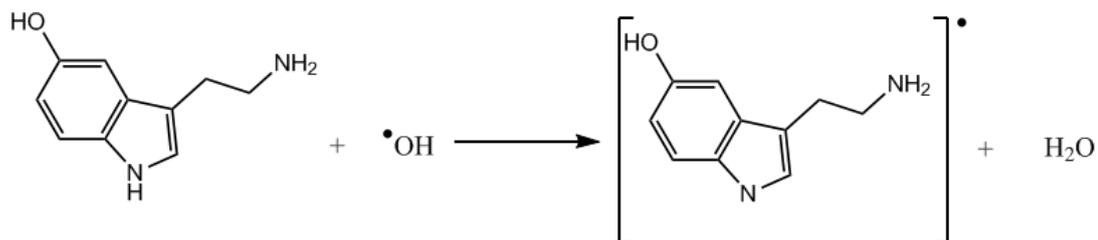
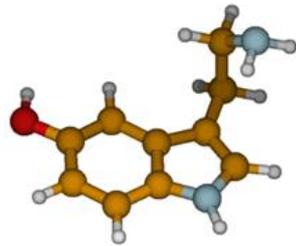
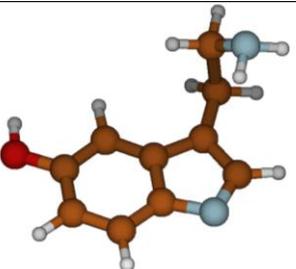


Figura 25. Esquema del mecanismo HAT en el nitrógeno N1 para el radical hidroxilo.

La estructura y energía corregida térmicamente correspondiente a cada uno de los reactivos y productos son las siguientes:

Tabla 15. Estructura y energía para cada especie que interviene en el mecanismo HAT en el nitrógeno N1 para el radical hidroxilo.

Estructura	G / (kJ/mol)
	-1504316,14
	-198918,12
	-1502639,59
	-200726,94

Al calcular la energía que conlleva este proceso, se obtiene:

$$\Delta G = [G(SER(-H)) + G(H_2O)] - [G(HO\bullet) + G(SER)] = -132,27 \text{ kJ/mol}$$

El resultado es negativo característico de un mecanismo exergónico y cuando se produce da lugar a desprendimiento de energía, por lo que es favorable de producirse, pero de los tres sitios en los que se estudia el mecanismo HAT, este es el menos favorable de todos.

En el *carbono C9* se tienen dos hidrógenos distintos, con lo cual se tienen dos posibles rupturas homolíticas correspondientes a los enlaces C9-H1 y C9-H2 y cuyos esquemas serían los siguientes:

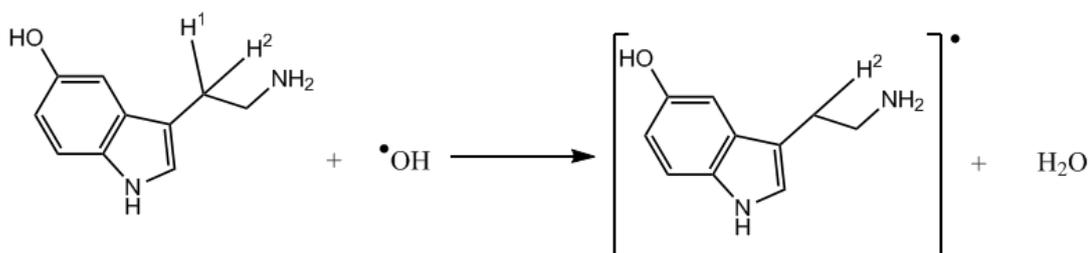


Figura 26. Esquema del mecanismo HAT en el hidrógeno H1 del carbono C9 para el radical hidroxilo.

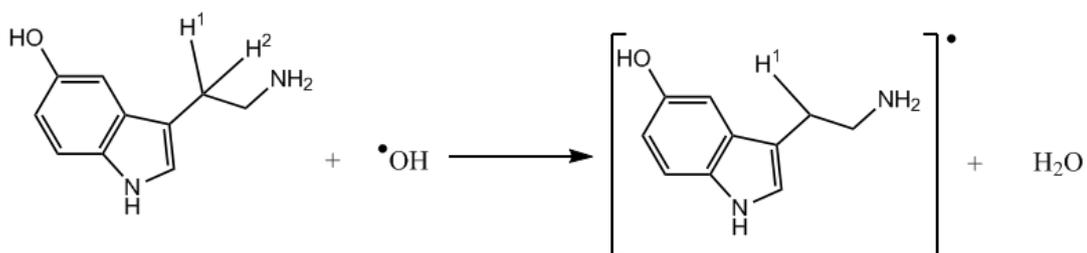
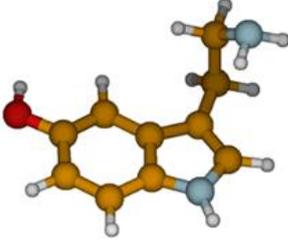
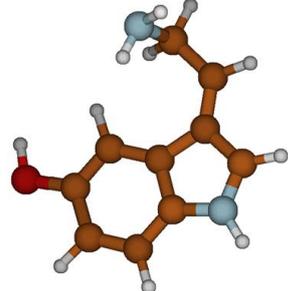


Figura 27. Esquema del mecanismo HAT en el hidrógeno H2 del carbono C9 para el radical hidroxilo.

A continuación, se muestran las estructuras y energías corregidas térmicamente en solución y se observa que para ambas rupturas se obtiene la misma energética y estructura del producto radicalario que se forma:

Tabla 16. Estructura y energía para cada especie que interviene en el mecanismo HAT en el carbono C9 para el radical hidroxilo.

Estructura	G / (kJ/mol)
	-1504316,14
	-198918,12
	-1502640,41
	-200726,94

Y se obtiene como energía del proceso:

$$\Delta G = [G(SER(-H)) + G(H_2O)] - [G(HO^{\bullet}) + G(SER)] = -133,09 \text{ kJ/mol}$$

Este resultado negativo indica que es un proceso exergónico, al igual que en los dos sitios anteriores estudiados, y que libera energía al tener lugar, por lo que es un proceso favorable. Además, se produce un cambio en la disposición de la cadena, lo que llama la atención, pues es el único caso de los estudiados donde ocurre esta singularidad y puede deberse a algún efecto electrónico estabilizante.

- Mecanismo RAF (Radical Adduct Formation):

Para que se dé este mecanismo, tiene que ocurrir la reducción de un doble enlace a uno sencillo y la formación de un enlace de uno de los carbonos, que formaba parte de ese doble enlace, con el oxígeno del radical hidroxilo. Esto daría lugar a una nueva especie radicalaria mucho más estable que la anterior, el radical hidroxilo, puesto que el

electrón impar se encontraría delocalizado a través del anillo. Así pues, los carbonos más susceptibles de sufrir este mecanismo serían el C1, el C4 y el C6, puesto que pueden reducir su enlace de doble a sencillo y por facilidad estérica, ya que los carbonos C2, C3, C5 y C8 se encuentran muy impedidos estéricamente.

Hay dos posibilidades de formarse el aducto, una en el mismo lado del plano que la cadena aminoetil y que se designa como *syn* y otra en el lado contrario y se designa como *anti*.

En el *carbono C1* el esquema sería el siguiente:

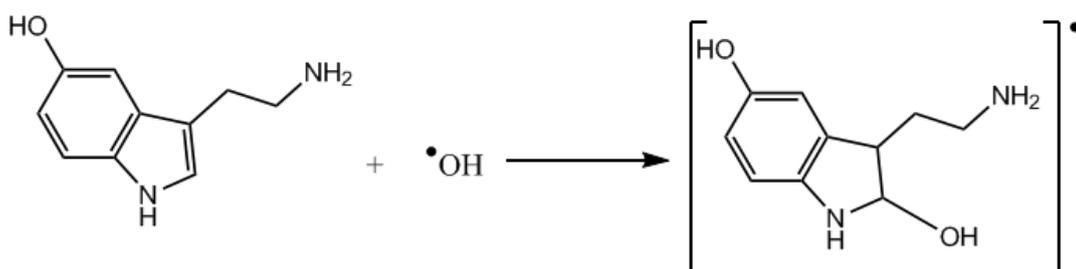
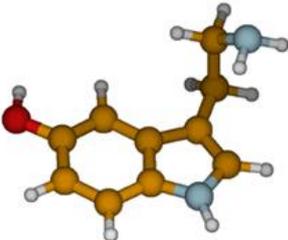
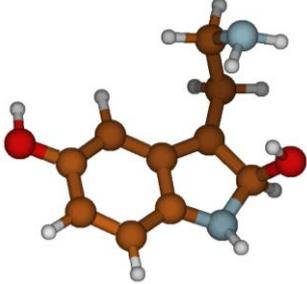
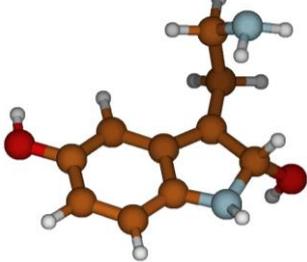


Figura 28. Esquema del mecanismo RAF en el carbono C1 para el radical hidroxilo.

Y las estructuras y energías corregidas térmicamente después de la re-optimización son las siguientes:

Tabla 17. Estructura y energía para cada especie que interviene en el mecanismo RAF en el carbono C1 para el radical hidroxilo.

Estructura	G / (kJ/mol)
	-1504316,14
	-198918,12

	<p>-1703314,79</p>
	<p>-1703320,24</p>

La diferencia entre los dos aductos es de unos 6 kJ/mol siendo más estable el que posee el grupo hidroxilo hacia el lado contrario que la cadena aminoetil, es decir, en posición anti. Esto es de esperar puesto que la posición syn estaría muy impedida estéricamente.

El balance energético para cada aducto sería:

$$\Delta G_{syn} = G(SER - OH^{\bullet}) - G(SER) - G(HO^{\bullet}) = -80,53 \text{ kJ/mol}$$

$$\Delta G_{anti} = G(SER - OH^{\bullet}) - G(SER) - G(HO^{\bullet}) = -85,98 \text{ kJ/mol}$$

Donde, de aquí en adelante, para este mecanismo SER-OH<sup>•</sup> denota el aducto radicalario formado por la serotonina y el radical hidroxilo, SER es la serotonina y HO<sup>•</sup> es el radical hidroxilo.

El resultado negativo es característico de un proceso exergónico, es decir, libera energía cuando tiene lugar este mecanismo, por lo que este mecanismo es favorable y, además, como se verá, es el más favorable de los tres sitios en los que se estudia este mecanismo. Cabe destacar también que, como es de esperar, sería menos desfavorable formar el aducto que posee el grupo hidroxilo en el lado contrario que la cadena aminoetil.

En el *carbono C4* el esquema sería similar al anterior, pero en este caso en un carbono diferente:

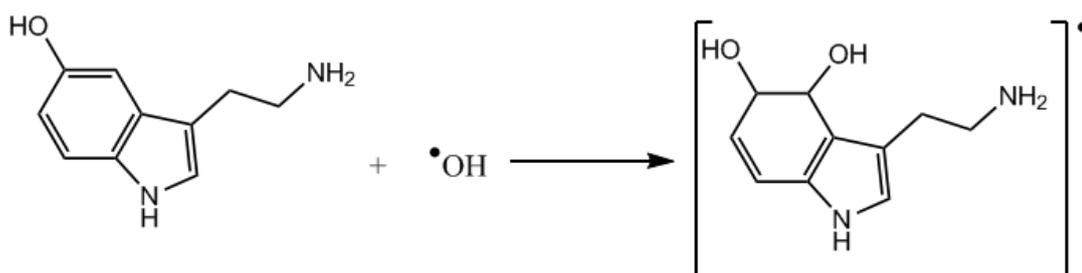
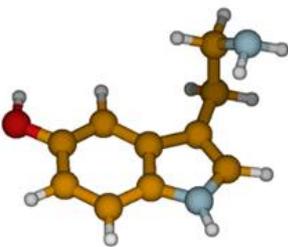
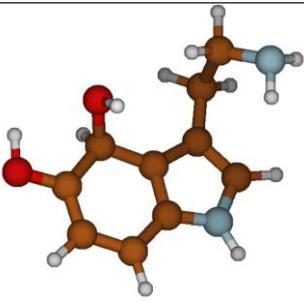
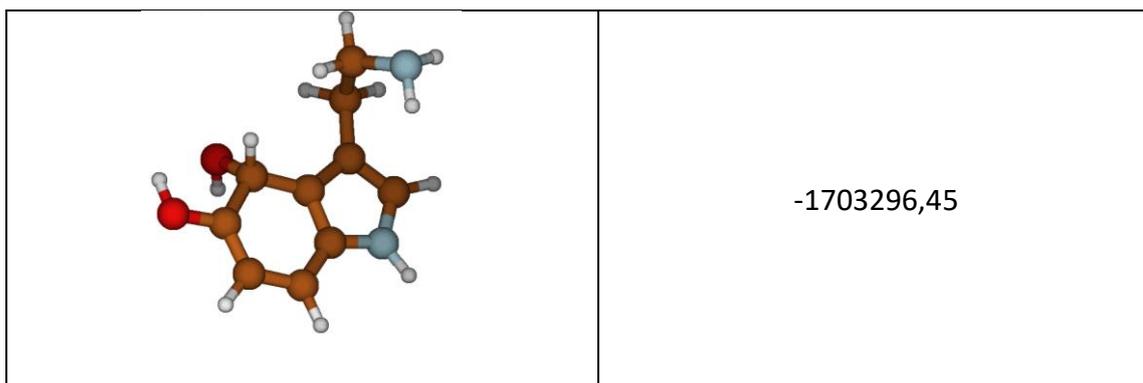


Figura 29. Esquema del mecanismo RAF en el carbono C4 para el radical hidroxilo.

Y las estructuras y energías corregidas térmicamente después de la re-optimización son las siguientes:

Tabla 18. Estructura y energía para cada especie que interviene en el mecanismo RAF en el carbono C4 para el radical hidroxilo.

Estructura	G / (kJ/mol)
	-1504316,14
	-198918,12
	-1703296,08



En este caso la diferencia entre los dos posibles aductos no llega a 1 kJ/mol y vuelve a ser más estable el que posee el grupo hidroxilo en posición anti con respecto a la cadena aminoetil como es de esperar. Además, la diferencia no es tanta como en el caso anterior puesto que en la posición C4 está algo más alejada de la cadena aminoetil que la posición C1.

El balance energético para cada aducto da como resultado:

$$\Delta G_{syn} = G(SER - OH^{\bullet}) - G(SER) - G(HO^{\bullet}) = -61,82 \text{ kJ/mol}$$

$$\Delta G_{anti} = G(SER - OH^{\bullet}) - G(SER) - G(HO^{\bullet}) = -62,19 \text{ kJ/mol}$$

Como se puede observar, este resultado también es negativo y, por lo tanto, indica que es un proceso exergónico y favorable de producirse. Además, la diferencia entre los dos aductos no llega a 1 kJ/mol, así que casi no hay diferencia entre ambos.

En el *carbono C6* también posee un esquema similar, pero en este caso en el carbono C6:

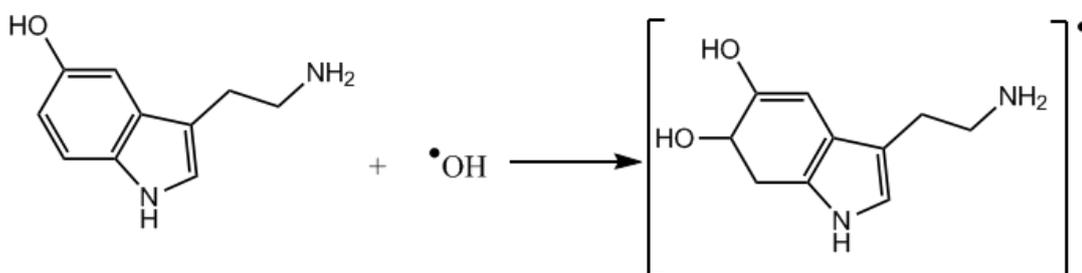
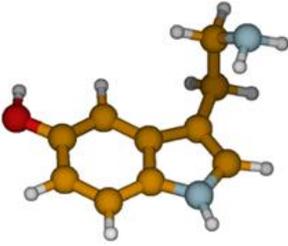
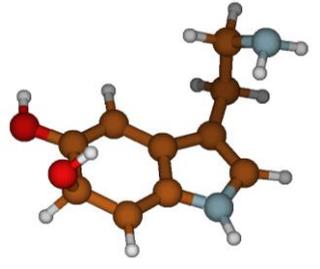
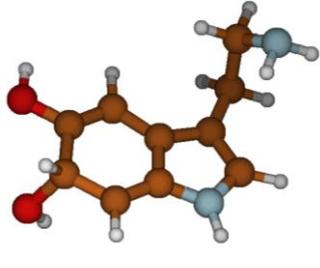


Figura 30. Esquema del mecanismo RAF en el carbono C6 para el radical hidroxilo.

Y las estructuras y energías corregidas térmicamente después de la re-optimización son las siguientes:

Tabla 19. Estructura y energía para cada especie que interviene en el mecanismo RAF en el carbono C6 para el radical hidroxilo.

Estructura	G / (kJ/mol)
	-1504316,14
	-198918,12
	-1703277,86
	-1703277,50

Al igual que para el carbono C4, la diferencia energética no llega a 1 kJ/mol, pero en este caso se obtiene que el aducto syn es más estable que el aducto anti y esto puede deberse a algún tipo de interacción electrónica estabilizante.

El balance energético para cada aducto se obtiene como:

$$\Delta G_{syn} = G(SER - OH^{\bullet}) - G(SER) - G(HO^{\bullet}) = -43,60 \text{ kJ/mol}$$

$$\Delta G_{anti} = G(SER - OH^{\bullet}) - G(SER) - G(HO^{\bullet}) = -43,23 \text{ kJ/mol}$$

Al igual que en las dos anteriores, el resultado es negativo y, además, el sitio en el que el mecanismo es menos favorable de los tres. También cabe destacar que la diferencia entre los dos aductos es mínima y que ambos podrían darse.

## 5.5.2- Mecanismos antioxidantes sobre el radical hidroperoxilo

### - Mecanismo SET (Single Electron Transfer):

Como ya se expuso para el radical hidroxilo, en este mecanismo se produce la donación de un electrón de la capa más externa de la serotonina, es decir, de la capa de valencia a la especie radicalaria y se formaría un radical catiónico, el cual estaría estabilizado por delocalización electrónica, y en este caso se forma el anión hidroperoxilo.

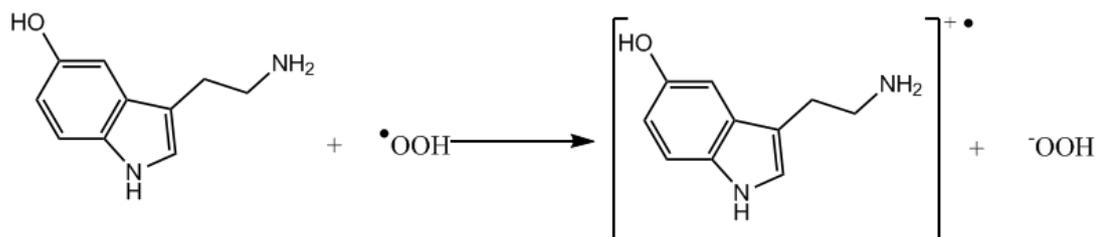
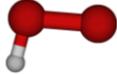


Figura 31. Esquema del mecanismo SET para el radical hidroperoxilo.

Las estructuras y energías de los productos y reactivos son las siguientes:

Tabla 20. Estructura y energía para cada especie que interviene en el mecanismo SET para el radical hidroperoxilo.

Estructura	G / (kJ/mol)
	-1504316,14
	-396307,13
	-1503781,50

	-396750,62
---	------------

La viabilidad de este mecanismo se puede deducir mediante el balance energético,  $\Delta G$ , de productos y reactivos, es decir, restando la energía de los productos menos la energía de los reactivos de la siguiente forma:

$$\Delta G = [G(SER^{+\bullet}) + G(HOO^{-})] - [G(SER) + G(HOO^{\bullet})] = 91,15 \text{ kJ/mol}$$

Y al igual que para el caso del radical hidroxilo, SER denota serotonina,  $SER^{+\bullet}$  la nueva especie radicalaria cargada formada,  $HOO^{-}$  es el anión hidroperoxilo y  $HOO^{\bullet}$  es el radical hidroperoxilo.

Se obtiene un resultado positivo característico de procesos endergónicos, es decir, para que la reacción tuviera lugar necesitaría un aporte energético, por lo que este mecanismo no es favorable de producirse. Al contrario que para el radical hidroxilo, en este caso el resultado indica que es un proceso desfavorable, por lo que la estabilización de la nueva especie cargada formada no es lo suficientemente grande como para que el proceso sea favorable.

#### - Mecanismo HAT (Hydrogen Atom Transfer):

De la misma manera que se expuso para el radical hidroxilo, en este mecanismo se produce la transferencia de un átomo de hidrógeno de la serotonina al radical hidroperoxilo mediante ruptura homolítica del enlace, lo cual formaría el correspondiente radical de la serotonina y este sería más estable que el radical hidroperoxilo, puesto que se estabilizaría mediante delocalización del electrón impar. Y, al igual que para el radical hidroxilo, se estudia este mecanismo en el grupo hidroxilo, el carbono C9 y el nitrógeno N1.

En el *grupo hidroxilo* la ruptura homolítica tendría lugar en el enlace O-H y el esquema sería el siguiente:

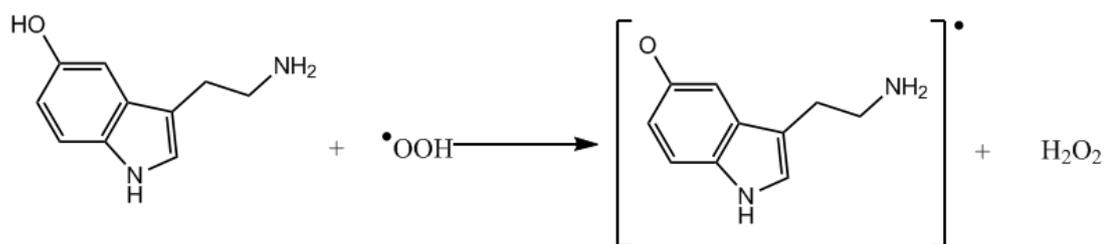


Figura 32. Esquema del mecanismo HAT en el grupo hidroxilo para el radical hidroperoxilo.

La estructura y energía corregida térmicamente para cada uno de los reactivos y productos son las siguientes:

Tabla 21. Estructura y energía para cada especie que interviene en el mecanismo HAT en el grupo hidroxilo para el radical hidroperoxilo.

Estructura	G / (kJ/mol)
	-1504316,14
	-396307,13
	-1502671,25
	-397977,42

El balance energético de este mecanismo sería:

$$\Delta G = [G(SER(-H)) + G(H_2O_2)] - [G(HOO\bullet) + G(SER)] = -25.4 \text{ kJ/mol}$$

Donde de aquí en adelante para este mecanismo SER(-H) denota la especie formada por pérdida de un átomo de hidrógeno, SER es la serotonina, HOO• el radical hidroperoxilo y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> la molécula formada debido a la captación del átomo de hidrógeno por parte del radical.

Este resultado negativo indica que el proceso es exergónico, es decir, libera energía al medio y, por lo tanto, es favorable que se produzca. Además, como se verá en las posiciones N1 y C9 este proceso es endergónico y, por lo tanto, poco favorable de producirse y esto lleva a la conclusión de que, si se produce el mecanismo HAT, será en el grupo hidroxilo de la molécula.

En el *nitrógeno N1* el esquema sería similar al anterior, pero esta vez la ruptura homolítica ocurre en el enlace N1-H del nitrógeno del anillo pirrólico:

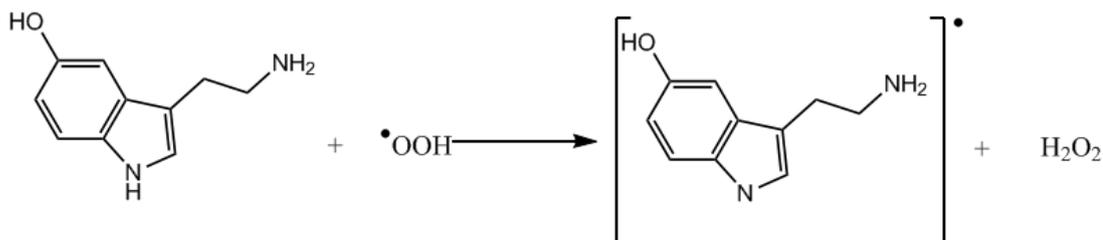
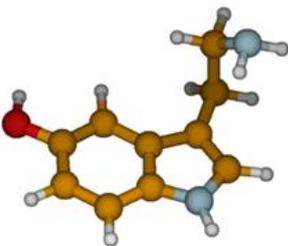
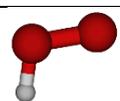
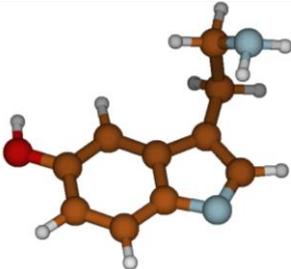
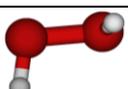


Figura 33. Esquema del mecanismo HAT en el nitrógeno N1 para el radical hidroperoxilo.

La estructura y energía corregida térmicamente correspondiente a cada uno de los reactivos y productos son las siguientes:

Tabla 22. Estructura y energía para cada especie que interviene en el mecanismo HAT en el nitrógeno N1 para el radical hidroperoxilo.

Estructura	G / (kJ/mol)
	-1504316,14
	-396307,13

	-1502639,59
	-397977,42

En este caso en el balance energético se obtiene:

$$\Delta G = [G(SER(-H)) + G(H_2O_2)] - [G(HOO^\bullet) + G(SER)] = 6.2 \text{ kJ/mol}$$

El resultado es positivo característico de un mecanismo endergónico y necesita tomar energía para que se dé, por lo que es poco favorable de producirse.

En el *carbono* C9 se tienen dos hidrógenos distintos, con lo cual se tienen dos posibles rupturas homolíticas correspondientes a los enlaces C9-H1 y C9-H2 y cuyos esquemas serían los siguientes:

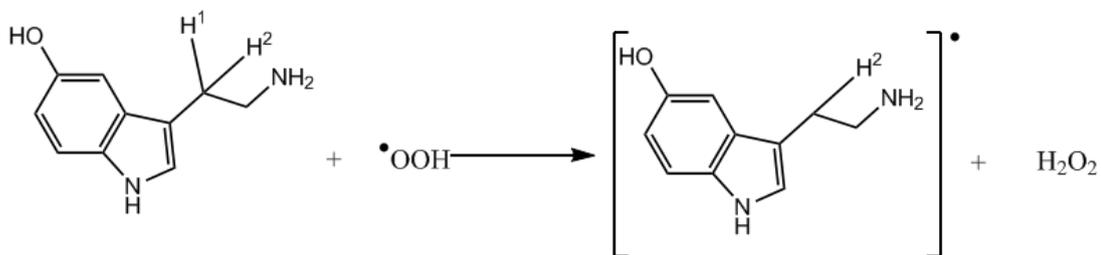


Figura 34. Esquema del mecanismo HAT en el hidrógeno H1 del carbono C9 para el radical hidropéroxilo.

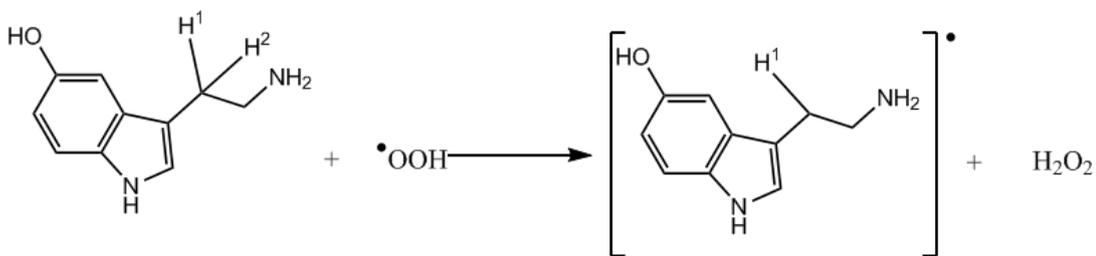
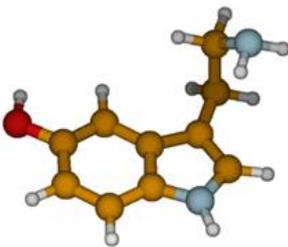
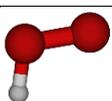
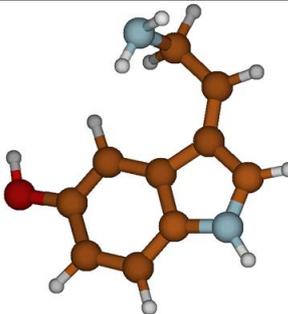
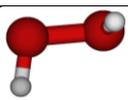


Figura 35. Esquema del mecanismo HAT en el hidrógeno H2 del carbono C9 para el radical hidropéroxilo.

A continuación, se muestran las estructuras y energías corregidas térmicamente en solución y se observa que para ambas rupturas se obtiene la misma energética y estructura para el producto radicalario formado:

Tabla 23. Estructura y energía para cada especie que interviene en el mecanismo HAT en el carbono C9 para el radical hidroperoxilo.

Estructura	G / (kJ/mol)
	-1504316,14
	-396307,13
	-1502640,41
	-397977,42

Y se obtiene como energía del proceso:

$$\Delta G = [G(SER(-H)) + G(H_2O_2)] - [G(HOO\bullet) + G(SER)] = 5.4 \text{ kJ/mol}$$

Al igual que en la posición N1, este resultado positivo indica que es un proceso endergónico y que necesita energía para producirse, por lo que es un proceso desfavorable. Al igual que para el radical hidroxilo, aquí también ocurre un cambio en la disposición de la cadena y puede deberse a algún tipo de interacción electrónica estabilizante.

- Mecanismo RAF (Radical Adduct Formation):

De forma similar al caso del radical hidroxilo, para que se dé este mecanismo, tiene que ocurrir la reducción de un doble enlace a uno sencillo y la formación de un enlace de uno de los carbonos, que formaba parte de ese doble enlace, con el oxígeno del grupo hidroxiperoxilo. Esto daría lugar a una nueva especie radicalaria mucho más estable que la anterior, el radical hidroxiperoxilo, puesto que el electrón impar se encontraría delocalizado a través del anillo. Así pues, de forma análoga al caso del radical hidroxilo, los carbonos en los que se estudia este mecanismo son el C1, el C4 y el C6.

Y también hay dos posibilidades de formarse el aducto, una en el mismo lado del plano que la cadena aminoetil y que se designa como syn y otra en el lado contrario y se designa como anti.

En el *carbono C1* el esquema sería el siguiente:

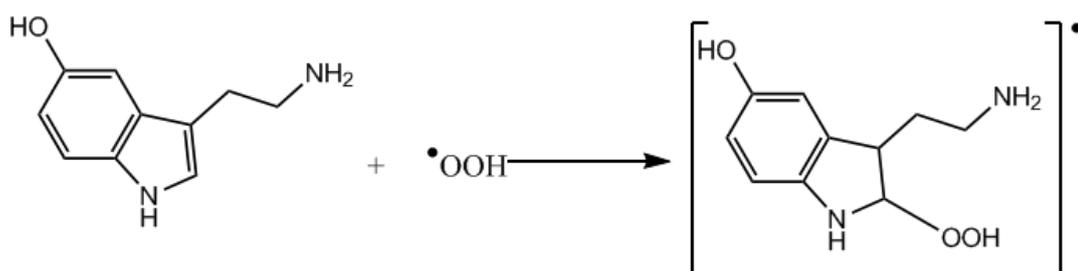
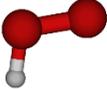
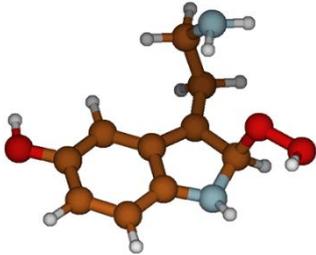
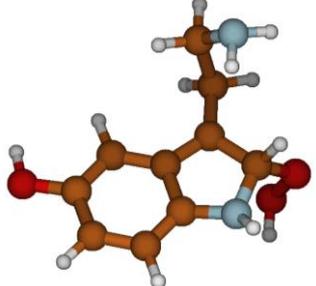


Figura 36. Esquema del mecanismo RAF en el carbono C1 para el radical hidroperoxilo.

Y las estructuras y energías corregidas térmicamente después de la re-optimización son las siguientes:

Tabla 24. Estructura y energía para cada especie que interviene en el mecanismo RAF en el carbono C1 para el radical hidroperoxilo.

Estructura	G / (kJ/mol)
	-1504316,14

	<p>-396307,13</p>
	<p>-1900591,66</p>
	<p>-1900599,67</p>

La diferencia entre los dos aductos es de unos 8 kJ/mol siendo más estable el que posee el grupo hidropoxilo hacia el lado contrario que la cadena aminoetil, es decir, en posición anti. Esto es de esperar puesto que la posición syn estaría muy impedida estéricamente.

El balance energético para cada aducto sería:

$$\Delta G_{syn} = G(SER - OOH^{\bullet}) - G(SER) - G(HOO^{\bullet}) = 31.6 \text{ kJ/mol}$$

$$\Delta G_{anti} = G(SER - OOH^{\bullet}) - G(SER) - G(HOO^{\bullet}) = 23.6 \text{ kJ/mol}$$

Donde de aquí en adelante para este mecanismo SER-OOH<sup>•</sup> denota el aducto formado por la serotonina y el radical hidropoxilo, SER es la serotonina y HOO<sup>•</sup> es el radical hidropoxilo.

El resultado positivo es característico de un proceso endergónico, es decir, necesita tomar energía para que tenga lugar, por lo que este mecanismo es desfavorable y, además, como se verá, es el menos desfavorable de los tres sitios en los que se estudia este mecanismo. Cabe destacar también que la diferencia entre los dos aductos es de unos 8 kJ/mol, por lo que sería menos desfavorable formar el aducto que posee el grupo hidropoxilo en el lado contrario que la cadena aminoetil.

En el *carbono C4* el esquema sería similar al anterior, pero en este caso en un carbono diferente:

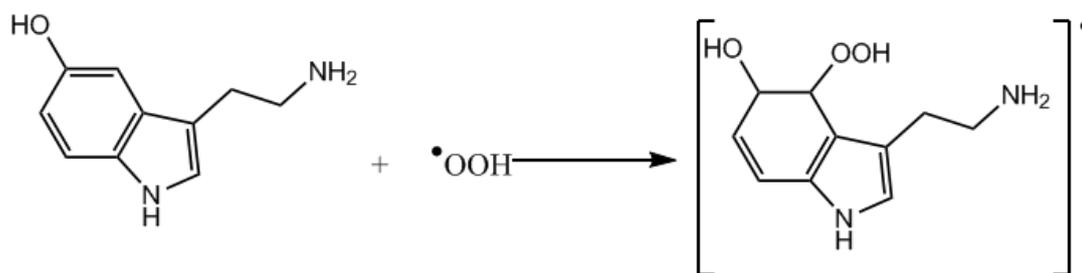
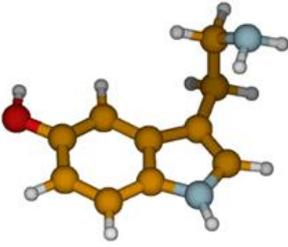
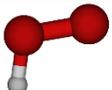
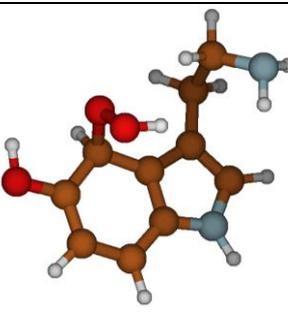
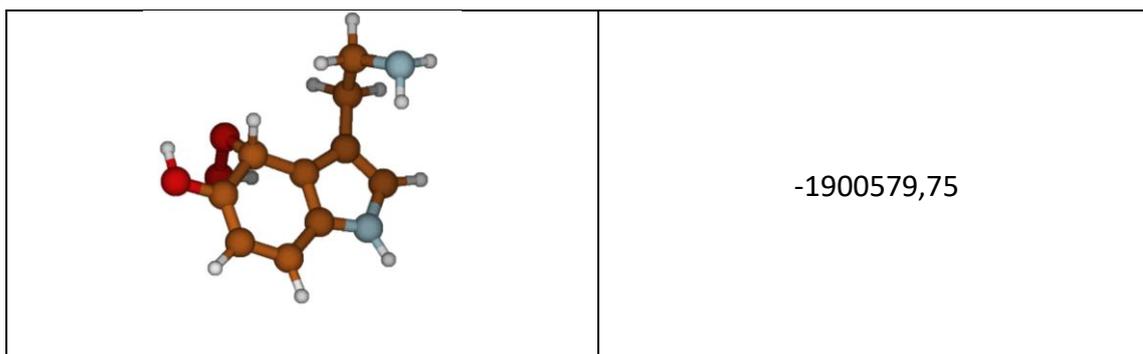


Figura 37. Esquema del mecanismo RAF en el carbono C4 para el radical hidroperoxilo.

Y las estructuras y energías corregidas térmicamente después de la re-optimización son las siguientes:

Tabla 25. Estructura y energía para cada especie que interviene en el mecanismo RAF en el carbono C4 para el radical hidroperoxilo.

Estructura	G / (kJ/mol)
	-1504316,14
	-396307,13
	-1900578,81



En este caso la diferencia entre los dos posibles aductos es de 1 kJ/mol y, aunque dicha diferencia no es mucha, el aducto más estable es el anti debido a que el syn tiene más impedimento estérico al encontrarse al mismo lado del plano que a cadena aminoetil. Además, la diferencia no es tanta como en el caso anterior puesto que la posición C4 está algo más alejada de la cadena aminoetil que la posición C1.

El balance energético para los dos aductos sería:

$$\Delta G_{syn} = G(SER - OOH^{\bullet}) - G(SER) - G(HOO^{\bullet}) = 44.5 \text{ kJ/mol}$$

$$\Delta G_{anti} = G(SER - OOH^{\bullet}) - G(SER) - G(HOO^{\bullet}) = 43.5 \text{ kJ/mol}$$

Como se puede observar, este resultado también es positivo y, por lo tanto, indica que es un proceso endergónico y poco favorable de producirse. Además, la diferencia entre los dos aductos es de tan solo 1 kJ/mol, así que casi no hay diferencia entre ambos.

En el *carbono C6* también posee un esquema similar, pero en este caso en el carbono C6:

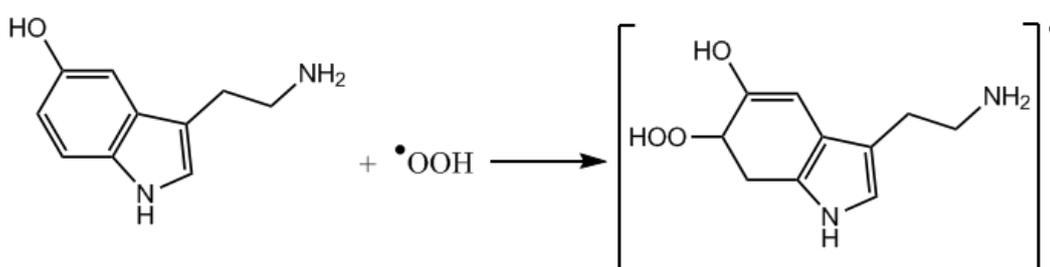
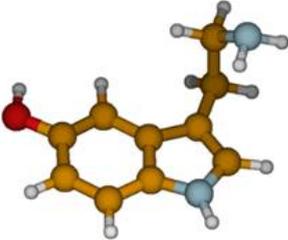
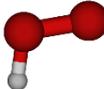
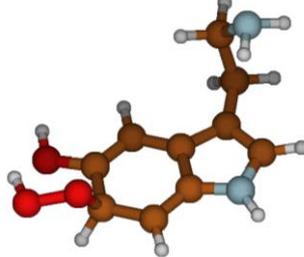
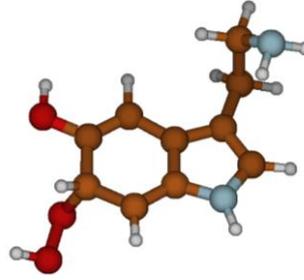


Figura 38. Esquema del mecanismo RAF en el carbono C6 para el radical hidroperoxilo.

Y las estructuras y energías corregidas térmicamente después de la re-optimización son las siguientes:

Tabla 26. Estructura y energía para cada especie que interviene en el mecanismo RAF en el carbono C6 para el radical hidroperoxilo.

Estructura	G / (kJ/mol)
	-1504316,14
	-396307,13
	-1900554,47
	-1900552,81

En este caso, la diferencia energética es de casi 2 kJ/mol, pero en este caso, al igual que para el radical hidroxilo, ocurre algo realmente curioso, ya que el aducto syn, es decir, el que posee el grupo hidroperoxilo y la cadena aminoetil hacia el mismo lado del plano, es más estable que el aducto anti y esto puede deberse a algún tipo de interacción electrostática del grupo hidroxilo y el grupo hidroperoxilo que por mayor cercanía es más fuerte y estabilizante para syn que para anti.

Y de la misma forma que las dos anteriores, el balance energético para los dos aductos sería:

$$\Delta G_{syn} = G(SER - OOH^{\bullet}) - G(SER) - G(HOO^{\bullet}) = 68.8 \text{ kJ/mol}$$

$$\Delta G_{anti} = G(SER - OOH^{\bullet}) - G(SER) - G(HOO^{\bullet}) = 70.5 \text{ kJ/mol}$$

Al igual que en las dos anteriores, el resultado es positivo y, además, el sitio en el que el mecanismo es más desfavorable de los tres. También cabe destacar que la diferencia es de unos 2 kJ/mol y que el aducto que posee en posición anti el grupo hidropéroxilo y la cadena aminoetil es el que conlleva mayor energía y, por lo tanto, es de todos el más desfavorable.

### 5.5.3- Comparativa de los radicales hidroxilo e hidroperoxilo

A continuación, se muestra una comparativa de los diferentes mecanismos para los radicales hidroxilo e hidroperoxilo a fin de dilucidar cuáles son los que podrían llegarse a dar.

Tabla 27. Comparativa de los diferentes mecanismos para los radicales hidroxilo e hidroperoxilo.

Mecanismo	Radical hidroxilo ( $\Delta G$ / kJ/mol)	Radical hidroperoxilo ( $\Delta G$ / kJ/mol)
SET	-5,48	91,15
HAT en el grupo hidroxilo	-163,93	-25,40
HAT en el nitrógeno N1	-132,28	6,25
HAT en el carbono C9	-133,09	5,43
RAF en el carbono C1- aducto syn	-80,53	31,60
RAF en el carbono C1- aducto anti	-85,98	23,59
RAF en el carbono C4- aducto syn	-61,82	44,46
RAF en el carbono C4- aducto anti	-62,19	43,52
RAF en el carbono C6- aducto syn	-43,60	68,79
RAF en el carbono C6- aducto anti	-43,23	70,45

Lo primero que llama la atención es que para el radical hidroxilo para cualquiera de los mecanismos estudiados son resultados negativos, lo cual nos indica que son procesos favorables desde el punto de vista termodinámico y, además, el mecanismo HAT sería el más favorable de todos. Y, sin embargo, para el radical hidroperoxilo el único

mecanismo favorable sería el mecanismo HAT en el grupo hidroxilo de la molécula. En cierto modo, esto es esperable, puesto que el radical hidroxilo es mucho más reactivo y posee una electrofilia superior al radical hidroperoxilo.

En el caso del mecanismo SET se observa que para el radical hidroxilo es favorable, pero el menos favorable de todos los mecanismos estudiados para este radical. Y, en cambio, para el radical hidroperoxilo es desfavorable y, además, el más desfavorable de todos los mecanismos estudiados para este radical. Esto lleva a pensar que el mecanismo SET no es un mecanismo que tenga lugar con mucha facilidad y esto puede deberse a que se forma una especie radical cargada.

Para el caso del mecanismo HAT, se observa que, de los tres sitios estudiados, es en el caso del grupo hidroxilo de la molécula el más favorable de todos, puesto que para el caso del radical hidroperoxilo es el único caso favorable y exergónico dentro de su estudio antioxidante y para el caso del radical hidroxilo es el más favorable y con un  $\Delta G$  más negativo de todos dentro de su estudio antioxidante. Esto indica que es muy probable que sea este el mecanismo antioxidante por el cual tenga lugar la actividad antioxidante de la serotonina. Para las otras dos posiciones estudiadas se obtienen resultados muy próximos entre sí, pero en el caso del radical hidroperoxilo son procesos endergónicos y en el caso del radical hidroxilo exergónicos.

Finalmente, para el caso del mecanismo RAE, se observa que hay una mayor diferencia entre la formación de un aducto syn y anti para la posición C1, puesto que para C4 y C6 se obtienen valores muy similares entre ambos aductos. Y, además, dentro de las posiciones estudiadas para este mecanismo, es el aducto anti en la posición C1 el más favorable para el radical hidroxilo y el menos desfavorable para el radical hidroperoxilo, lo cual indica cierta predisposición a que, si se da dicho mecanismo, tenga lugar en la posición C1 y se forme el aducto anti. En el caso de la posición C6, ocurre que el aducto syn se estabiliza algo más que el anti, lo cual puede indicar que existe algún tipo de efecto electrónico dentro de la molécula estabilizante. Y también cabe señalar que para el radical hidroxilo es un proceso exergónico y para el radical hidroperoxilo es endergónico.

## 6 - Conclusiones

Tras la realización del presente Trabajo de Fin de Grado se puede observar que éste se divide en dos partes, por un lado, el análisis conformacional de la molécula para dilucidar el confórmero más estable y, por lo tanto, el más probable de existir; y, por otro lado, el estudio de los mecanismos antioxidantes sobre dicho confórmero. A continuación, se exponen las conclusiones más destacables obtenidas en este trabajo.

Del análisis conformacional se puede decir que los métodos semiempíricos AM1 y PM3 no son métodos muy fiables, pero sirven como primera aproximación y las coordenadas cartesianas obtenidas son las que se re-optimizan mediante DFT M05-2X/6-311++G(d,p). En cuanto a los datos energéticos a vacío, éstos indican una estabilización de la conformación Gpy(up)/anti, ya que, aunque no se predice como más estable para las energías sin corregir (E) y corregidas mediante la energía en el punto cero ( $E_0$ ), para las energías corregidas térmicamente (G) es el más estable de todos y se toma como estructura más probable de existir en vacío. Y, por último, pero lo más importante de esta primera parte del trabajo, es que el confórmero Gpy(up)/anti se mantiene como mínimo más estable en los datos energéticos obtenidos en solución, tanto para las energías sin corregir (E) como para las corregidas mediante la energía en el punto cero ( $E_0$ ) y térmicamente (G), y coincide con la conformación que se toma como más probable de existir en vacío. Además, mediante el estudio poblacional estadístico de Maxwell-Boltzmann se obtiene que dicha conformación es la que más peso porcentual tiene y, a la vista de los datos energéticos y estadísticos, se toma para la realización del estudio de los mecanismos antioxidantes.

Finalmente, del estudio de los mecanismos antioxidantes se observa que existe una mayor disposición de reacción frente al radical hidroxilo que frente al radical hidroperoxilo. Mientras que para el radical hidroxilo todos los mecanismos estudiados son favorables, para el radical hidroperoxilo sólo se encuentra como favorable el mecanismo HAT en el grupo hidroxilo de la molécula. Además, es el mecanismo HAT en el grupo hidroxilo de la molécula el más favorable para el radical hidroxilo, por lo que se espera que sea dicho mecanismo en dicha posición lo que prevalezca sobre los demás. Por el contrario, el mecanismo SET es el que más dificultad tendrá a la hora de darse y, por lo tanto, será el más improbable de todos. Y el mecanismo RAF se encontraría entre

medias de los mecanismos HAT y SET, siendo el aducto anti en la posición C1 el preferido a obtenerse en este mecanismo.



## 7 - Bibliografía

- [1] B. Halliwell and J. M. Gutteridge, "Free Radicals in Biology and Medicine," 2015.
- [2] R. L. Z. Y.Z. Fang, *Theory and Application of Free Radical Biology*. Science Press: Beijing, 2002.
- [3] B. Halliwell, R. Aeschbach, J. Löliger, and O. I. Aruoma, "The characterization of antioxidants," *Food Chem. Toxicol.*, vol. 33, no. 7, pp. 601–617, 1995.
- [4] N. Cotelle, J. L. Bernier, J. P. Catteau, J. Pommery, J. C. Wallet, and E. M. Gaydou, "Antioxidant properties of hydroxy-flavones," *Free Radic. Biol. Med.*, vol. 20, no. 1, pp. 35–43, 1996.
- [5] S. K. Srivastava and V. B. Singh, "Spectroscopic signatures and structural motifs in isolated and hydrated serotonin: a computational study," *RSC Adv.*, vol. 5, no. 36, pp. 28141–28157, 2015.
- [6] M. Wilke, C. Brand, J. Wilke, and M. Schmitt, "The conformational space of the neurotransmitter serotonin: how the rotation of a hydroxyl group changes all," *Phys. Chem. Chem. Phys.*, vol. 18, no. 19, pp. 13538–13545, 2016.
- [7] T. A. LeGreve, E. E. Baquero, and T. S. Zwier, "Infrared and ultraviolet spectral signatures and conformational preferences of jet-cooled serotonin," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 129, no. 13, pp. 4028–4038, 2007.
- [8] T. van Mourik and L. E. V. Emson, "A theoretical study of the conformational landscape of serotonin Electronic supplementary information (ESI) available: computed harmonic hydride stretch frequencies and intensities of the serotonin (OH-anti) and (OH-syn) conformers. See <http://www.rsc.org/>," *Phys. Chem. Chem. Phys.*, vol. 4, no. 23, pp. 5863–5871, 2002.
- [9] M. Leopoldini, T. Marino, N. Russo, and M. Toscano, "Antioxidant properties of phenolic compounds: H-atom versus electron transfer mechanism," *J. Phys. Chem. A*, vol. 108, no. 22, pp. 4916–4922, 2004.
- [10] D. C. Liebler and T. D. McClure, "Antioxidant reactions of  $\beta$ -carotene: Identification of carotenoid-radical adducts," *Chem. Res. Toxicol.*, vol. 9, no. 1, pp. 8–11, 1996.
- [11] W. Brand-Williams, M. E. Cuvelier, and C. Berset, "Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity," *LWT - Food Sci. Technol.*, vol. 28, no. 1, pp. 25–30, 1995.
- [12] "Hyperchem v 8.0.3 for Windows." .

- [13] "MobaXterm v 7.0." .
- [14] G. E. S. M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel *et al.*, "Gaussian 16, Revision A.03." 2016.
- [15] D. B. Cook, *Handbook of Computational Quantum Chemistry* .
- [16] J. Bertran Rusca, V. Branchadell Gallo, M. Moreno Ferrer, and M. Sodupe Roure, *Química cuántica: Fundamentos y Aplicaciones Computacionales* .
- [17] J. Andrés and J. Beltrán, *Química Teórica y Computacional* .
- [18] Ira N. Levine, *Fisicoquímica*, Quinta Edi. McGraw Hill.
- [19] P. Hobza, M. Kabelàc, J. Sponer, P. Mejzlík, and J. Vondrásek, "Performance of empirical potentials (AMBER, CFF95, CVFF, CHARMM, OPLS, POLTEV), semiempirical quantum chemical methods (AM1, MNDO/M, PM3), and ab initio Hartree-Fock method for interaction of DNA bases: Comparison with nonempirical beyond Hartree-Fock results," *J. Comput. Chem.*, vol. 18, no. 9, pp. 1136–1150, 1997.
- [20] M. J. S. Dewar, E. G. Zoebisch, E. F. Healy, and J. J. P. Stewart, "Development and use of quantum mechanical molecular models. 76. AM1: a new general purpose quantum mechanical molecular model," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 107, no. 13, pp. 3902–3909, 1985.
- [21] M. Hallett, R. a T. Human, and C. Physiology, "Comments on a Comparison of AM1 with the Recently Developed PM3 Method," *Adm. Sci. Q.*, vol. 15, no. 1, pp. 1106–1107, 1992.
- [22] M. P. Repasky, J. Chandrasekhar, and W. L. Jorgensen, "PDDG/PM3 and PDDG/MNDO: Improved semiempirical methods," *J. Comput. Chem.*, vol. 23, no. 16, pp. 1601–1622, 2002.
- [23] G. I. Csonka and J. G. Ángyán, "The origin of the problems with the PM3 core repulsion function," *J. Mol. Struct. THEOCHEM*, vol. 393, no. 1–3, pp. 31–38, 1997.
- [24] Y. Zhao, N. E. Schultz, and D. G. Truhlar, "Design of density functionals by combining the method of constraint satisfaction with parametrization for thermochemistry, thermochemical kinetics, and noncovalent interactions," *J. Chem. Theory Comput.*, vol. 2, no. 2, pp. 364–382, 2006.
- [25] R. M. Lobayan, M. C. P. Schmit, A. H. Jubert, and A. Vitale, "Conformational and stereoelectronic investigation of tryptamine. An AIM/NBO study," *J. Mol. Model.*, vol. 18, no. 6, pp. 2577–2588, 2012.

- [26] R. M. Lobayan, M. C. P. Schmit, A. H. Jubert, and A. Vitale, "Aqueous solvent effects on the conformational space of tryptamine. Structural and electronic analysis," *J. Mol. Model.*, vol. 19, no. 3, pp. 1109–1123, 2013.
- [27] A. Galano, "Mechanism and kinetics of the hydroxyl and hydroperoxyl radical scavenging activity of N-acetylcysteine amide," *Theor. Chem. Acc.*, vol. 130, no. 1, pp. 51–60, 2011.

**Otro material consultado:**

- [28] O. Jha, T. K. Yadav, and R. A. Yadav, "Comparative structural and vibrational study of the four lowest energy conformers of serotonin," *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 173, pp. 307–317, 2017.
- [29] G. Alagona and C. Ghio, "Protonated serotonin conformational landscape in vacuo and in aqueous solution (IEF-PCM): Role of correlation effects and monohydration," *J. Mol. Struct. THEOCHEM*, vol. 769, no. 1–3, pp. 123–134, 2006.
- [30] R. Omidyan, Z. Amanollahi, and G. Azimi, "Solvation effect on isomer stability and electronic structures of protonated serotonin," *Chem. Phys. Lett.*, vol. 679, pp. 90–96, 2017.
- [31] N. P.I., A. G., and G. C., "Theoretical Conformational Analysis for Neurotransmitters in the Gas Phase and in Aqueous Solution. Norepinephrine - Journal of the American Chemical Society (ACS Publications)," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 125, no. 9, pp. 2770–2785, 2003.
- [32] V. B. Delchev and H. Mikosch, "Theoretical study of the hydrogen-bonded complexes serotonin-water/hydrogen peroxide," *J. Mol. Model.*, vol. 12, no. 3, pp. 272–80, 2006.
- [33] S. Azouzi *et al.*, "Antioxidant and Membrane Binding Properties of Serotonin Protect Lipids from Oxidation," *Biophys. J.*, vol. 112, no. 9, pp. 1863–1873, 2017.
- [34] İ. Gülçin, "Measurement of antioxidant ability of melatonin and serotonin by the DMPD and CUPRAC methods as trolox equivalent," *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, vol. 23, no. 6, pp. 871–876, 2008.
- [35] R. Álvarez-Diduk, A. Galano, D. X. Tan, and R. J. Reiter, "N-Acetylserotonin and 6-Hydroxymelatonin against Oxidative Stress: Implications for the Overall Protection Exerted by Melatonin," *J. Phys. Chem. B*, vol. 119, no. 27, pp. 8535–8543, 2015.

## 8 - Listado de figuras, ecuaciones y tablas

### ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Serotonina en su forma protonada. ....	8
Figura 2. Nomenclatura de los confórmeros basada en la orientación del grupo NH <sub>2</sub> , la orientación ..	9
Figura 3. Etiquetado de los átomos en la serotonina. Referencia tomada de: [8] .....	10
Figura 4. Estructuras de los 12 confórmeros OH-anti ordenados en aumento de energías totales, E <sub>e</sub> , según .....	10
Figura 5. Ejemplo de SEP en 2D. ....	18
Figura 6. Ejemplos de SEP en 3D. ....	18
Figura 7. Curva de potencial. ....	19
Figura 8. Superficie de Energía Potencial. ....	20
Figura 9. Ejemplo de análisis conformacional del butano según sus aspectos energéticos. ....	20
Figura 10. Diferencia entre mínimo y máximo local y global. ....	21
Figura 11. Esquema de algoritmos de optimización. ....	23
Figura 12. Representación de STO y GTO junto a sus ventajas, inconvenientes y usos. ....	25
Figura 13. Escáner de la energía a través del ángulo diedro $\gamma_c$ según el estudio de van Mourik et al. ....	42
Figura 14. Energías relativas en kJ/mol de los confórmeros de la serotonina mediante B3LYP/6-31+G*. ....	45
Figura 15. Energías relativas corregidas mediante la energía en el punto cero en kJ/mol y momentos dipolares (D) .....	47
Figura 16. Energías relativas corregidas mediante la energía en el punto cero en kJ/mol y momentos dipolares (D) .....	48
Figura 17. Energías relativas corregidas mediante la energía en el punto cero en kJ/mol y momentos dipolares (D) .....	49
Figura 18. Estructuras optimizadas de los 18 confórmeros más estables de la serotonina mediante. ....	49
Figura 19. Comparación de las energías relativas de los confórmeros de la serotonina de los niveles MP2, .....	50
Figura 20. Comparación de las energías relativas de los confórmeros de la serotonina a nivel MP2. ....	50
Figura 21. Comparación de las energías relativas de los confórmeros de la serotonina a nivel B3LYP ..	51
Figura 22. Numeración y estructura del confórmero Gpy(up)/anti. ....	65
Figura 23. Esquema del mecanismo SET para el radical hidroxilo. ....	67
Figura 24. Esquema del mecanismo HAT en el grupo hidroxilo para el radical hidroxilo. ....	68
Figura 25. Esquema del mecanismo HAT en el nitrógeno N1 para el radical hidroxilo. ....	70
Figura 26. Esquema del mecanismo HAT en el hidrógeno H1 del carbono C9 para el radical hidroxilo. ....	71
Figura 27. Esquema del mecanismo HAT en el hidrógeno H2 del carbono C9 para el radical hidroxilo. ....	71
Figura 28. Esquema del mecanismo RAF en el carbono C1 para el radical hidroxilo. ....	73
Figura 29. Esquema del mecanismo RAF en el carbono C4 para el radical hidroxilo. ....	75
Figura 30. Esquema del mecanismo RAF en el carbono C6 para el radical hidroxilo. ....	76
Figura 31. Esquema del mecanismo SET para el radical hidroperoxilo. ....	78

Figura 32. Esquema del mecanismo HAT en el grupo hidroxilo para el radical hidroperoxilo. ....	80
Figura 33. Esquema del mecanismo HAT en el nitrógeno N1 para el radical hidroperoxilo.....	81
Figura 34. Esquema del mecanismo HAT en el hidrógeno H1 del carbono C9 para el radical hidroperoxilo. ....	82
Figura 35. Esquema del mecanismo HAT en el hidrógeno H2 del carbono C9 para el radical hidroperoxilo. ....	82
Figura 36. Esquema del mecanismo RAF en el carbono C1 para el radical hidroperoxilo. ....	84
Figura 37. Esquema del mecanismo RAF en el carbono C4 para el radical hidroperoxilo. ....	86
Figura 38. Esquema del mecanismo RAF en el carbono C6 para el radical hidroperoxilo. ....	87

## ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1. Ecuación de Schrödinger independiente del tiempo. ....	16
Ecuación 2. Expresión del Hamiltoniano como suma de términos electrónico y nuclear. ....	16
Ecuación 3. Expresión del Hamiltoniano molecular simplificado. ....	17
Ecuación 4. Definición de gradiente.....	21
Ecuación 5. Definición de hessiano. ....	22
Ecuación 6. Expresión para orbitales moleculares.....	23
Ecuación 7. Expresión para orbitales atómicos.....	23
Ecuación 8. Expresión para orbitales de tipo gaussiano. ....	24
Ecuación 9. Expresión para orbitales de tipo gaussiano contractos. ....	25
Ecuación 10. Expresión para la energía de repulsión entre dos núcleos A y B. ....	29
Ecuación 11. Expresión para la energía de repulsión según el método MNDO.....	29
Ecuación 12. Ecuación de la estadística poblacional de Maxwell-Boltzmann. ....	62

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Estructura de los 24 mínimos estables de la serotonina después de la optimización .....	34
Tabla 2. Energías obtenidas mediante el método AM1 para los 24 mínimos estables de la serotonina. ....	36
Tabla 3. Energías obtenidas mediante el método PM3 para los 24 mínimos estables de la serotonina. ....	38
Tabla 4. Estructuras de los 24 mínimos estables de la serotonina en vacío después de la optimización mediante el.....	40
Tabla 5. Energías sin corregir absoluta y relativa de cada mínimo estable mediante la optimización en vacío con.....	43
Tabla 6. Energías absoluta y relativa corregidas mediante la energía en el punto cero para cada conformero en vacío .....	46
Tabla 7. Energías absoluta y relativa corregidas térmicamente para cada conformero en vacío mediante .....	51
Tabla 8. Estructuras de los 24 mínimos estables de la serotonina en solución después de la optimización mediante el.....	54

Tabla 9. Energías sin corregir absoluta y relativa de cada mínimo estable mediante la optimización en solución con.....	56
Tabla 10. Energías absoluta y relativa corregidas mediante la energía en el punto cero para cada confórmero.....	58
Tabla 11. Energías absoluta y relativa corregidas térmicamente para cada confórmero en solución mediante .....	60
Tabla 12. Distribución poblacional de los confórmeros de la serotonina en vacío y solución. ....	62
Tabla 13. Estructura y energía para cada especie que interviene en el mecanismo SET para el radical hidroxilo.....	67
Tabla 14. Estructura y energía para cada especie que interviene en el mecanismo HAT.....	69
Tabla 15. Estructura y energía para cada especie que interviene en el mecanismo HAT.....	70
Tabla 16. Estructura y energía para cada especie que interviene en el mecanismo HAT.....	72
Tabla 17. Estructura y energía para cada especie que interviene en el mecanismo RAF.....	73
Tabla 18. Estructura y energía para cada especie que interviene en el mecanismo RAF.....	75
Tabla 19. Estructura y energía para cada especie que interviene en el mecanismo RAF.....	77
Tabla 20. Estructura y energía para cada especie que interviene en el mecanismo SET para el radical hidroperoxilo.....	78
Tabla 21. Estructura y energía para cada especie que interviene en el mecanismo HAT.....	80
Tabla 22. Estructura y energía para cada especie que interviene en el mecanismo HAT.....	81
Tabla 23. Estructura y energía para cada especie que interviene en el mecanismo HAT.....	83
Tabla 24. Estructura y energía para cada especie que interviene en el mecanismo RAF.....	84
Tabla 25. Estructura y energía para cada especie que interviene en el mecanismo RAF.....	86
Tabla 26. Estructura y energía para cada especie que interviene en el mecanismo RAF.....	88
Tabla 27. Comparativa de los diferentes mecanismos para los radicales hidroxilo e hidroperoxilo....	90