

CONSTANCIA DE PRESENTACION DE EXAMEN DE GRADO

La Universidad Autónoma Metropolitana extiende la presente CONSTANCIA DE PRESENTACION DE DISERTACIÓN PÚBLICA de DOCTORA EN CIENCIAS (QUIMICA) de la alumna MAYRA LOZANO ESPINOSA, matrícula 210180618, quien cumplió con los 328 créditos correspondientes a las unidades de enseñanza aprendizaje del plan de estudio. Con fecha nueve de marzo del 2017 presentó la DEFENSA de su DISERTACIÓN PÚBLICA cuya denominación es:

EFFECTOS DEL CONFINAMIENTO Y DE ENTORNOS POLIPEPTÍDICOS EN LA REACTIVIDAD INTRÍNSECA DE CATIONES DE METALES DE TRANSICIÓN

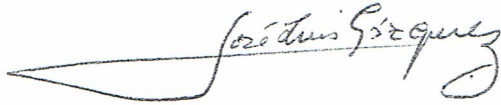
Cabe mencionar que la aprobación tiene un valor de 180 créditos y el programa consta de 483 créditos.

El jurado del examen ha tenido a bien otorgarle la calificación de:

APROBAR

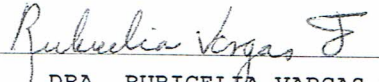
JURADO

Presidente



DR. JOSE LUIS GAZQUEZ MATEOS

Secretaria



DRA. RUBICELIA VARGAS FOSADA

Vocal



DRA. ANA MARIA MARTINEZ VAZQUEZ

Vocal



DRA. ANNIA GALANO JIMENEZ

Vocal



DR. FERNANDO CORTES GUZMAN

EFFECTOS DEL CONFINAMIENTO Y DE  
ENTORNOS POLIPEPTÍDICOS EN LA  
REACTIVIDAD INTRÍNSECA DE CATIONES  
DE METALES DE TRANSICIÓN

TESIS QUE PRESENTA  
MAYRA LOZANO ESPINOSA  
PARA LA OBTENCIÓN DEL GRADO DE  
DOCTORA EN CIENCIAS

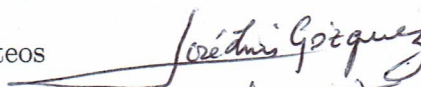
MARZO 9, 2017

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA - IZTAPALAPA  
DIVISIÓN DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA

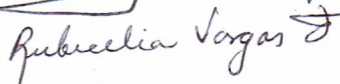
ASESOR:  
DR. MARCELO E. GALVÁN ESPINOSA

EL JURADO ESTUVO FORMADO  
POR LOS SIGUIENTES SINODALES:

Presidente Dr. José Luis Gázquez Mateos



Secretario Dra. Rubicelia Vargas Fosada



Vocal Dra. Annia Galano Jiménez



Vocal Dra. Ana María Martínez Vázquez



Vocal Dr. Fernando Cortés Guzmán





A mis hijos Michelle y Mateo

# Agradecimientos

Mi sincero agradecimiento al Dr. Marcelo Galván, director de esta tesis, por el apoyo, la orientación y la enseñanza brindadas para que este proyecto fuera posible.

Mi respetuoso agradecimiento a mis sinodales, Dra. Rubicelia Vargas, Dra. Annia Galano, Dra. Ana María Martínez, Dr. José Luis Gázquez y Dr. Fernando Cortés, por el tiempo dedicado en la revisión de esta tesis y por los valiosos comentarios y sugerencias que ayudaron a enriquecer y mejorar la calidad de mi trabajo.

A los profesores y compañeros del Área de Físicoquímica Teórica de la UAM-I, gracias.

Finalmente agradezco a mis padres Armando y Yoya, por ser los pilares en mi vida, por allanar mi camino enseñandome el mundo de las letras y el gusto por el conocimiento. A mis hermanos, Laura, Fanny y Armando por su inigualable apoyo y confianza. A mi compañero de vida, Avelino por los días y las noches de estudio. Y en especial a mis hijos Michelle y Mateo por su amor y comprensión porque sin saberlo me han regalado su valioso tiempo para que este proyecto se culmine.

# Resumen

En esta tesis se presenta un estudio sobre el efecto que tiene confinar cationes en condiciones límite sobre algunos parámetros de reactividad intrínseca. Por medio de un método basado en la solución numérica de las ecuaciones de Kohn-Sham espín polarizado no relativista para átomos, se estudió el comportamiento del potencial de espín y la energía de apareamiento para una muestra representativa de cationes de la primera fila de metales de transición. En este estudio se determinó que a diferencia de los átomos neutros, para los cationes no existen cruces de eigenvalores bajo condiciones de confinamiento extremo en ninguno de los casos estudiados. Así mismo encontramos que para estos cationes la convergencia de las propiedades estudiadas se da para un radio de confinamiento de 6 unidades atómicas, mientras que en los átomos neutros dicha convergencia se alcanza hasta las 12 unidades atómicas. También se observó que el error de autointeracción encontrado en funcionales de intercambio y correlación no afecta la energía de apareamiento de los cationes confinados. En un segundo punto se estudió como se ven afectados estos parámetros de reactividad al someter los cationes a entornos polipeptídicos; para este fin usamos las enzimas Hierro superóxido dismutasa (FeSOD) y Manganese superóxido dismutasa (MnSOD). De este estudio se determinó que si se usa un esquema de diferencias finitas, se debe tener cuidado al asignar los parámetros de reactividad debido a que en algunos casos la reactividad obtenida está presente en sitios que no son relevantes dentro del análisis. Nuestros hallazgos indican que la mejor forma de incluir un potencial electrostático efectivo es aumentandolo de forma esférica.

# Abstract

In the first part of this thesis, the behavior of intrinsic reactivity parameters for a representative sample of first row transition metal cations is studied under spherical confinement conditions by solving numerically the non-relativistic spin polarized Kohn-Sham equations for atoms. It was determined that, in contrast with neutral atoms, the cations do not exhibit eigenvalue crossings under extreme confinement conditions, at least for the cases studied in this work. It was also found that for these cations the convergence of the studied properties occurs for a confinement radius of 6 atomic units, whereas in the neutral atoms this convergence is reached up to 12 atomic units. In addition, it was determined that the self-interaction error found in approximate exchange-correlation functionals does not affect the pairing energy in confined cations. In a second part of the work, the behavior of spin polarized reactivity parameters of Mn and Fe cations as a function of polypeptide environments is studied. For this purpose we used the enzymes Iron superoxide dismutase (FeSOD) and Manganese superoxide dismutase (MnSOD). From this study, it was determined that if a finite difference scheme is used, one has to take care of the fact that in some cases the reactivity obtained sits on a region that is not the one relevant for the analysis. Also, our findings indicate that the best way to include an effective electrostatic potential should be growing in a spherical form.

# Introducción.

Uno de los mayores logros de la química es haber llegado al entendimiento de la relación entre reactividad química y la distribución electrónica de átomos, moléculas y sólidos. Las ecuaciones de la mecánica cuántica aplicadas a sistemas químicos permiten describir la reactividad química de un sistema a partir de su estructura electrónica; y así responder interrogantes como ¿Qué le sucede a una especie química cuando esta frente a otra?, ¿Qué hace que dos especies reaccionen? o bien, como es el caso estudiado en esta tesis doctoral, ¿Cómo cambia el comportamiento de esta especie química cuando su entorno químico cambia?

La gran importancia de los sistemas biológicos hace que en la actualidad gran parte del trabajo en química sea de naturaleza bioquímica y requiera del uso de la química cuántica para su entendimiento. Entre los problemas más interesantes se encuentran, por ejemplo, el estudio del plegamiento de proteínas y la relación entre secuencia, estructura y función, otro problema que encontramos son los sitios metálicos en ambientes peptídicos ya que son sistemas químicos de alta relevancia en biología debido a que están asociados con múltiples procesos enzimáticos. Existe otro tipo de problemas para este tipo de sistemas, y está relacionado con su gran tamaño y complejidad, así mismo se puede mencionar que el efecto del



ambiente en el que se encuentran este tipo de sistemas también juega un papel importante, para el adecuado funcionamiento de la enzima. Este último problema puede ser abordado al utilizar métodos en los que se puede particionar el sistema en una región cuántica y una región tratada con métodos de la mecánica molecular. Los sitios metálicos dentro de una enzima generalmente realizan la función catalítica y se denominan sitios activos. Estos sitios contienen uno o varios metales que con frecuencia son elementos de transición. Por esa razón, es común que sean sistemas electrónicos de capa abierta y por lo mismo son sistemas retadores para un estudio de estructura electrónica. La bibliografía sobre la caracterización estructural y reactiva de estos sistemas es abundante y el interés por realizar estudios de estructura electrónica en ellos es creciente, sobre todo en la última década. En este último ámbito se puede mencionar que hay estudios que incluyen trayectorias de reacción así como estudios donde se aborda el tratamiento de los estados electrónicos de capa abierta de los sitios aislados.

Uno de los aspectos que ha limitado el uso de la estructura electrónica para estudiar estos ambientes químicos es el hecho de que aún los modelos mas sencillos del sitio activo suelen contener varias decenas de átomos, lo cual los hace poco accesibles a procedimientos de cálculo que incluyan de manera consistente los efectos de la correlación electrónica. Es por esa razón, que en la actualidad el tamaño de los modelos de sitios activos de metaloenzimas va de la mano del desarrollo de los métodos basados en la Teoría de Funcionales de la Densidad. Desde luego que las limitaciones propias de la Teoría de Funcionales de la Densidad (por ejemplo, sistemas que requieren un tratamiento multirreferencial) siguen jugando en contra para estudiar algunos de estos sistemas. No obstante lo anterior, hay muchos estudios de sitios activos en metaloenzimas; la variedad en el tipo y tamaño de los modelos estructurales simplificados que se usan es grande, sin embargo no existen estudios sistemáticos que determinen el tamaño mínimo del ambiente peptídico requerido para describir apropiadamente las propiedades electrónicas de los sitios activos de este tipo de

enzimas.

En esta tesis se aplican los conceptos de reactividad química, definidos en la Teoría de Funcionales de la Densidad, para estudiar el impacto de potenciales efectivos externos en las propiedades de transferencia de carga y de espín de cationes y átomos de metales de transición.

Para su presentación, esta tesis está estructurada de la siguiente manera:

Los conceptos de la química cuántica que nos permiten hacer el estudio de la estructura electrónica así como los conceptos de reactividad química presentes en la Teoría de Funcionales de la Densidad en el formalismo espín polarizado se presentan en el capítulo 1. Así mismo se presenta una propuesta de posibles formas en que se pueden ordenar los potenciales químicos para que se lleve a cabo la transferencia electrónica entre dos sistemas.

En el capítulo 2, se presentan los objetivos y la hipótesis de esta tesis.

En el capítulo 3, se muestra cómo se calcularon algunos índices de reactividad y las energías de apareamiento de átomos y cationes de metales de transición. En éste se presenta un estudio de átomos confinados; este estudio tuvo la finalidad de tener el punto de referencia más sencillo para la respuesta de un sistema catiónico al ambiente que le rodea; así mismo permitió establecer y calibrar procedimientos de cálculo de los diversos coeficientes de respuesta basados en la Teoría de Funcionales de la Densidad. Al final de este capítulo se presentan los resultados, discusión y conclusiones obtenidas de este estudio.

El capítulo 4, está dedicado al estudio de la reactividad química intrínseca de las enzimas superóxido dismutasas de Fe y Mn. En este capítulo se presenta con detalle la forma de evaluar los índices de reactividad química globales y locales. Así mismo se analiza el efecto de potenciales electrostáticos efectivos en las propiedades electrónicas de los sitios activos de las enzimas estudiadas. Para este análisis se utilizaron dos formas de crecer el potencial electrostático efectivo: uno corresponde a casquetes esféricos en el que el grosor fue creciendo

y en el otro método el tamaño se incrementó añadiendo aminoácido por aminoácido. Debido a que los sitios activos de estas enzimas son sistemas de capa abierta, los parámetros de reactividad estudiados son el potencial químico electrónico generalizado y las funciones condensadas de Fukui generalizadas adecuados para distinguir la reactividad en entornos polarizados de espín.

Por último se presentan las conclusiones generales y las perspectivas de esta tesis.

# Capítulo 1

## Fundamentos Teóricos.

En este capítulo se presentan los conceptos de la Teoría de Funcionales de la Densidad (TFD), la cual ha sido un camino alternativo en el estudio de la estructura electrónica para resolver problemas que encontramos en química, física y biología. En la primera sección se describe el método de Kohn-Sham (KS) espín polarizado, así como la forma en que se resueven las ecuaciones de Kohn-Sham para un sistema confinado; también se hace una discusión sobre la aproximación al funcional de intercambio y correlación (Exc ); después se describe el teorema de Janak y por último se plantea el problema de la autointeracción. En la segunda sección se hace referencia a los conceptos de reactividad química, derivados de la Teoría de Funcionales de la Densidad. Posteriormente, se presenta un análisis sobre las posibles formas de alinear que presenta el potencial químico si consideramos la interacción entre dos sistemas que intercambian electrones de las dos simetrías de espín ( $\alpha, \beta$ ) y las condiciones para que se lleve a cabo la transferencia electrónica.

## 1.1. Teoría de Funcionales de la Densidad.

La Teoría de Funcionales de la Densidad (TFD)<sup>1</sup> se sustenta en los teoremas de Hohenberg y Kohn (HK)<sup>2</sup> publicados en 1964, en donde se utiliza como variable fundamental a la densidad electrónica,  $\rho(\vec{r})$ , la cual nos dice como están distribuidos los electrones en el espacio. El primer teorema implica que la energía total de un sistema puede ser expresado en términos de la densidad electrónica, es decir, que la energía es un funcional único de la densidad  $E[\rho(\vec{r})]$ . El segundo teorema dice que el estado basal se puede encontrar a través del principio variacional,  $E[\rho(\vec{r})] \leq E[\tilde{\rho}(\vec{r})]$ , donde  $\tilde{\rho}(\vec{r})$  es una densidad de prueba. Hohenberg y Kohn escriben la energía total de un sistema de la siguiente manera

$$E[\rho(\vec{r})] = F[\rho(\vec{r})] + \int \rho(\vec{r})v(\vec{r})d\vec{r} \quad (1.1)$$

donde  $F[\rho(\vec{r})]$  es el funcional universal de Hohenberg y Kohn y  $v(\vec{r})$  es el potencial externo que en el caso de un átomo o molécula es el generado por lo núcleos. El problema existente hasta la fecha, es que no se conoce con exactitud la forma de escribir el funcional universal en términos exclusivamente de la densidad. En 1965 Kohn y Sham (KS)<sup>3</sup> proponen que el funcional universal se puede escribir como

$$F[\rho(\vec{r})] = T_s[\rho(\vec{r})] + J[\rho(\vec{r})] + E_{xc}[\rho(\vec{r})] \quad (1.2)$$

donde  $T_s[\rho(\vec{r})]$  corresponde a la energía cinética de partículas independientes,  $J[\rho(\vec{r})]$  es la interacción coulombica, definida como

$$J[\rho(\vec{r})] = \frac{1}{2} \int \int \frac{\rho(\vec{r})\rho(\vec{r}')}{|\vec{r} - \vec{r}'|} d\vec{r}d\vec{r}' \quad (1.3)$$

y

$$E_{xc}[\rho(\vec{r})] = T[\rho(\vec{r})] - T_s[\rho(\vec{r})] + V_{ee}[\rho(\vec{r})] - J[\rho(\vec{r})] \quad (1.4)$$

corresponde al funcional de energía de intercambio y correlación, el cual contiene la diferencia entre la energía cinética del sistema real  $T[\rho(\vec{r})]$  y  $T_s[\rho(\vec{r})]$ , así como la diferencia entre la energía de interacción electrón-electrón del sistema real y la interacción coulombica  $V_{ee}[\rho(\vec{r})] - J[\rho(\vec{r})]$ . Por lo tanto el funcional de la energía se expresa como:

$$E^{\text{KS}}[\rho(\vec{r})] = T_s[\rho(\vec{r})] + \int \rho(\vec{r})v(\vec{r})d\vec{r} + J[\rho(\vec{r})] + E_{xc}[\rho(\vec{r})] \quad (1.5)$$

### 1.1.1.1. Método de Kohn-Sham espín polarizado.

Si se toma en cuenta la simetría de espín, la densidad total del sistema puede ser escrita en términos de las densidades  $\alpha$  y  $\beta$  de la siguiente manera:

$$\rho(\vec{r}) = \rho^\alpha(\vec{r}) + \rho^\beta(\vec{r}) \quad (1.6)$$

además, también se puede conocer la densidad de espín, la cual se expresa como:

$$\rho_s(\vec{r}) = \rho^\alpha(\vec{r}) - \rho^\beta(\vec{r}) \quad (1.7)$$

De las ecuaciones anteriores puede verse que ahora se tienen dos conjuntos de variables  $\rho(\vec{r})$ ,  $\rho_s(\vec{r})$  y  $\rho^\alpha(\vec{r})$ ,  $\rho^\beta(\vec{r})$ , las cuales son equivalentes ya que se pueden escribir las ecuaciones de transformación de un conjunto de variables en términos de las otras. En el capítulo 3 de esta tesis los resultados se obtienen utilizando el primer conjunto de variables, el segundo conjunto es utilizado en el capítulo 4. De acuerdo con lo anterior, se puede expresar la energía de KS escrita en la ecuación 1.5 en términos de las densidades  $\alpha$  o  $\beta$  de la siguiente manera

$$E^{\text{KS}}[\rho^\alpha(\vec{r}), \rho^\beta(\vec{r})] = T_s[\rho^\alpha(\vec{r}), \rho^\beta(\vec{r})] + J[\rho^\alpha(\vec{r}), \rho^\beta(\vec{r})] + E_{xc}[\rho^\alpha(\vec{r}), \rho^\beta(\vec{r})] + \int [\rho^\alpha(\vec{r}) + \rho^\beta(\vec{r})]v(\vec{r})d\vec{r} \quad (1.8)$$

donde  $T_s$  tiene la forma

$$T_s[\rho^\alpha(\vec{r}), \rho^\beta(\vec{r})] = \sum_{\sigma} \sum_i n_i^{\sigma} \int \psi_i^{\sigma*}(\vec{r}) \left[-\frac{1}{2}\nabla^2\right] \psi_i^{\sigma}(\vec{r}) d\vec{r} \quad (1.9)$$

Cada término de la ecuación 1.8 mantiene el significado que los de la ecuación 1.5. La contribución de intercambio y correlación puede ser separada en la parte de intercambio y correlación como sigue:

$$E_{xc}[\rho^\alpha(\vec{r}), \rho^\beta(\vec{r})] = E_x[\rho^\alpha(\vec{r}), \rho^\beta(\vec{r})] + E_c[\rho^\alpha(\vec{r}), \rho^\beta(\vec{r})] \quad (1.10)$$

### 1.1.2. Resolución de las ecuaciones de Kohn-Sham para un sistema confinado.

La Teoría de Funcionales de la Densidad en el formalismo de Kohn-Sham espín polarizado se utiliza para obtener la estructura electrónica de átomos multielectrónicos confinados en una esfera de radio  $R_c$  de paredes lisas e impenetrables. Al minimizar la ecuación 1.8 con respecto al conjunto de espín orbitales, se obtienen las ecuaciones de Kohn-Sham que se deben resolver

$$\left[-\frac{1}{2}\nabla^2 + v_H(\vec{r}) + v_{xc}^{\sigma}[\rho^\alpha, \rho^\beta](\vec{r}) + v(\vec{r})\right] \psi_i^{\sigma}(\vec{r}) = \varepsilon_i^{\sigma} \psi_i^{\sigma}(\vec{r}) \quad (1.11)$$

donde  $v_{xc}^{\sigma}[\rho^\alpha, \rho^\beta](\vec{r})$  es la derivada funcional del funcional de energía de intercambio y correlación con respecto a la densidad de espín  $\sigma$  ( $\sigma = \alpha, \beta$ ), y

$$v_H(\vec{r}) = \int d\vec{r}' \frac{\rho(\vec{r}')}{|\vec{r} - \vec{r}'|} \quad (1.12)$$

En el caso de los átomos confinados, debido a la naturaleza del confinamiento, tenemos que

$$\rho(\vec{r}) \begin{cases} \rho(\vec{r}) \text{ si } |r| < Rc \\ 0 \text{ si } |r| \geq Rc; \end{cases} \quad (1.13)$$

esta densidad se obtiene como una combinación lineal de los orbitales de Kohn-Sham  $\psi_i^\sigma(\vec{r})$ , y, por lo tanto, es necesario que para cada orbital se cumplan las mismas condiciones, es decir,

$$\psi_i^\sigma \begin{cases} 0 \text{ si } |r| \geq Rc \\ \psi_i^\sigma \text{ si } |r| < Rc; \end{cases} \quad (1.14)$$

por lo mismo las ecuaciones de Kohn-Sham se deben resolver imponiendo las restricciones 1.14. Para lograr lo anterior se propone una solución de la forma

$$\psi_i^\sigma(\vec{r}) = \frac{1}{r} y_{n_i l_i}^\sigma(r) Y_{l_i m_i}(\omega) \quad (1.15)$$

donde

$$y_{n_i l_i}^\sigma(0) = y_{n_i l_i}^\sigma(Rc) = 0 \quad (1.16)$$

ya que la función  $\psi_i^\sigma(\vec{r})$  debe ser finita en el origen, la ecuación 1.16 muestra que las funciones  $y_{n_i l_i}^\sigma$  están sujetas a las condiciones de frontera de Dirichlet. Por otro lado, al hacer un promedio esférico sobre el potencial efectivo definido como

$$v_{eff}(r) = v(\vec{r}) + \frac{\delta J}{\delta \rho(\vec{r})} + \frac{\delta E_{xc}}{\delta \rho(\vec{r})} \quad (1.17)$$

se obtiene que las ecuaciones radiales a resolver son

$$-\frac{d^2 y_{n_i l_i}^\sigma(r)}{dr^2} + 2[\varepsilon_{n_i l_i}^\sigma - v_{eff}(r)] Y_{m_i l_i}^\sigma = 0 \quad (1.18)$$



con

$$v_{eff}^{\sigma}(r) = -\frac{z}{r} + \frac{l(l+1)}{2r^2} + v_H(r) + v_{xc}^{\sigma}[\rho^{\alpha}, \rho^{\beta}](r) \quad (1.19)$$

en donde se ha utilizado el potencial generado por el núcleo  $v(\vec{r}) = -z/r$

### 1.1.3. Energía de intercambio y correlación.

A pesar de que el formalismo de Kohn y Sham es exacto, hasta la fecha se desconoce la forma del funcional de intercambio y correlación,  $E_{xc}$ , por lo que se necesita hacer aproximaciones a este funcional. John P. Perdew propuso la escalera de Jacob que se refiere a una clasificación de estas aproximaciones.<sup>4</sup>

La primera aproximación para este funcional se conoce como *Aproximación de Densidad Local* (LDA por sus siglas en inglés)<sup>3</sup> y consiste en suponer que en cada punto del espacio, la energía de intercambio y correlación depende sólo de la densidad en ese punto. Esta aproximación define  $E_{xc}[\rho(\vec{r})]$  de la siguiente manera<sup>1</sup>

$$E_{xc}^{LDA}[\rho(\vec{r})] = \int \rho(\vec{r}) \varepsilon_{xc}[\rho(\vec{r})] d\vec{r} \quad (1.20)$$

donde  $\varepsilon_{xc}[\rho(\vec{r})]$  indica la energía de intercambio y correlación por partícula. La función  $\varepsilon_{xc}[\rho(\vec{r})]$  puede ser dividida en las contribuciones de intercambio y correlación como

$$\varepsilon_{xc}[\rho(\vec{r})] = \varepsilon_x[\rho(\vec{r})] + \varepsilon_c[\rho(\vec{r})] \quad (1.21)$$

donde la parte de intercambio  $\varepsilon_x[\rho(\vec{r})]$  se calcula mediante la ecuación de Dirac para la energía de intercambio

$$\varepsilon_x[\rho(\vec{r})] = -\frac{3}{4} \left( \frac{3}{\pi} \right)^{\frac{1}{3}} \rho(\vec{r})^{\frac{1}{3}} \quad (1.22)$$

mientras que la parte de correlación  $\varepsilon_c[\rho(\vec{r})]$  se ajusta a resultados obtenidos mediante técnicas de Monte Carlo cuántico.<sup>1</sup> La ecuación 1.21 también puede ser escrita en términos

de las densidades  $\alpha$  y  $\beta$  de la siguiente manera

$$E_{xc}[\rho^\alpha(\vec{r}), \rho^\beta(\vec{r})] = E_x[\rho^\alpha(\vec{r}), \rho^\beta(\vec{r})] + E_c[\rho^\alpha(\vec{r}), \rho^\beta(\vec{r})] \quad (1.23)$$

Esta aproximación permite calcular geometrías, frecuencias de vibración y otras propiedades estructurales de sistemas fuertemente enlazados (moléculas y sólidos) con un error menor al 1% de su valor experimental;<sup>5</sup> sin embargo, si se desea calcular la geometría de sistemas débilmente enlazados o energías de ionización de átomos, energías de disociación de moléculas y energías de cohesión en sólidos, hacia finales del siglo XX se tenía conocimiento de que la aproximación LDA generaba errores del orden de 10-20%.<sup>5</sup> Con el objetivo de mejorar la descripción de las inhomogeneidades de la densidad (que no se toman en cuenta en la aproximación LDA) se introduce una aproximación conocida como Aproximación de Gradiente Generalizado (o GGA por sus siglas en inglés),<sup>6-9</sup> y que consiste en el desarrollo de la energía de intercambio y correlación en términos de la densidad y de sus gradientes de una manera en que su derivada funcional no diverge. De esta forma se considera en cada punto el valor de la densidad y como varía ésta alrededor de cada punto. En general, los funcionales de intercambio y correlación GGA mejoran la descripción energética de los sistemas químicos. Se obtienen errores promedio de 10 kcal/mol en pruebas termoquímicas respecto al valor experimental.<sup>10</sup> Una expresión general para la energía de intercambio y correlación para ésta aproximación es la siguiente<sup>11</sup>

$$E_{xc}[\rho(\vec{r})] = \int d\vec{r} \rho(\vec{r}) \varepsilon_{xc}[\rho(\vec{r})] F_{xc}[\rho(\vec{r}), \nabla\rho(\vec{r})] \quad (1.24)$$

donde  $F_{xc}$  cumple con la regla de la suma para el agujero de intercambio y correlación.<sup>10</sup> La ecuación 1.24 puede escribirse en términos de las densidades  $\alpha$  y  $\beta$  de la siguiente manera

$$E_{xc}^{GGA}[\rho_\alpha, \rho_\beta] = \int d\vec{r} \varepsilon_{xc}(\rho_\alpha, \rho_\beta) \rho(\vec{r}) F_{xc}(\rho_\alpha, \rho_\beta, \nabla\rho_\alpha, \nabla\rho_\beta) \quad (1.25)$$

Por otra parte, muchos funcionales de intercambio tienen la forma

$$E_x^{GGA} = \int d\vec{r} \rho(\vec{r}) \varepsilon_x^{LDA} \rho(\vec{r}) F_x(s) \quad (1.26)$$

donde  $f(s)$ , es una función del gradiente reducido de la densidad

$$s = \frac{|\nabla \rho(\vec{r})|}{c \rho^{4/3}(\vec{r})} \quad (1.27)$$

De esta manera se tiene en cuenta los posibles efectos de una densidad no homogénea. Un ejemplo representativo de esta aproximación es el funcional reportado por Perdew, Burke y Ernzerhof<sup>12,13</sup> el cual ha motivado a varias revisiones y mejoras.<sup>14</sup> Para algunas propiedades estas aproximaciones dan mejores resultados que LDA, en particular para geometrías moleculares y energías del estado fundamental; este tipo de aproximaciones mejoran la descripción energética de los sistemas químicos, con errores de 5-7 kcal/mol (por cada enlace) respecto al valor experimental.<sup>5</sup>

En el trabajo propuesto por Perdew<sup>4</sup> el tercer peldaño de la escalera de Jacob se refiere a los funcionales meta-GGA, en los cuales aparece la densidad de la energía cinética y/o el laplaciano de la densidad:

$$\tau(\vec{r}) = -\frac{1}{2} \sum_i^N |\nabla \chi_i^{KS}(\vec{r})|^2 \quad (1.28)$$

$$E_{xc}^{meta-GGA}[\rho] = \int f[\rho, \nabla \rho, \nabla^2 \rho, \tau] d\vec{r}. \quad (1.29)$$

De este tipo de funcionales, el funcional no empírico TPSS<sup>15</sup> es posiblemente el más utilizado.

Existe otra clase de aproximaciones al funcional de intercambio y correlación denominados *funcionales híbridos*,<sup>16</sup> los cuales se definen mediante una combinación lineal de la

energía de intercambio de Hartree-Fock exacto<sup>17</sup> y el intercambio de los funcionales LDA o GGA; a estas expresiones de la energía de intercambio se les agrega un funcional de correlación. La combinación posiblemente más utilizada es la denominada B3LYP. Los funcionales híbridos pueden reducir el error en el cálculo de la energía de sistemas químicos hasta el orden de 2-3 kcal/mol,<sup>5</sup> respecto al valor experimental.

#### 1.1.4. Autointeracción electrónica.

Un problema relacionado con utilizar una aproximación al funcional de intercambio y correlación  $E_{xc}[\rho(\vec{r})]$  dentro de la Teoría de Funcionales de la Densidad es la descripción del comportamiento asintótico correcto del potencial de intercambio y correlación,  $V_{xc}(\vec{r})$ , el cual se define como

$$\lim_{|r \rightarrow \infty|} V_{xc}(\vec{r}) = \lim_{|r \rightarrow \infty|} \frac{\delta E_{xc}}{\delta \rho(\vec{r})} \sim -\frac{1}{r} \quad (1.30)$$

En el caso particular de los funcionales LDA y GGA el potencial de intrercambio y correlación presenta un decaimiento exponencial,<sup>1</sup> lo cual implica que no todas las propiedades de los sistemas químicos que se estudian se describen de manera apropiada.

Otro de los problemas asociados es la autointeracción electrónica, la cual se refiere a interacciones espúreas de un electrón consigo mismo. Este problema no se presenta en la teoría de Hartree-Fock (HF),<sup>17</sup> porque el intercambio cancela de manera explícita y exacta la contribución coulombica de cada orbital.<sup>17</sup> Considerando un sistema monoeléctrico como es el caso del átomo de hidrógeno, se tiene que, la energía total depende sólo de la energía cinética y el potencial externo debido a los núcleos, de acuerdo con esto, con un sólo electrón no hay absolutamente ninguna interacción electrón electrón en el sistema. El término de repulsión electrostática está dada por el funcional de energía coulombica

representada en la ecuación 1.3 en la cual las contribuciones a la energía coulombica debidas a la autointeracción están consideradas; esto implica que, por definición, el funcional  $J[\rho(r)]$  no es libre de autointeracción. Dentro de la Teoría de Funcionales de la Densidad este término no se cancela exactamente para un sistema de un electrón dado que es evidente que un electrón no puede interactuar coulombicamente consigo mismo. En el caso de un sistema de varios electrones, usando el lenguaje de Kohn-Sham, la contribución a la energía coulombica debida a la autointeracción, se debe cancelar con su correspondiente contribución a la energía de intercambio; lo cual implica que el funcional de intercambio y correlación  $E_{xc}[\rho(\vec{r})]$  exacto debe cumplir con estas condiciones y por consiguiente debe ser libre de autointeracción, sin embargo, esto no ocurre debido a que el término de autointeracción coulombica no se cancela de manera correcta con las aproximaciones al funcional de intercambio y correlación como LDA y GGA entre otros.

Para resolver el problema de la autointeracción existen en la literatura distintos métodos para hacer la corrección a la autointeracción (SIC por sus siglas en inglés); entre los cuales está el método de Perdew-Zunger,<sup>18</sup> en esta aproximación el funcional de intercambio y correlación libre de autointeracción lo escriben de la siguiente manera

$$E_{xc}^{SIC}[\rho_{i\sigma}] = E_{xc}^{approx}[\rho^\alpha, \rho^\beta] - \sum_{\sigma=\alpha,\beta} \sum_{i=1}^{N_\sigma} (E_{xc}^{approx}[\rho_{i\sigma}, 0] + J[\rho_{i\sigma}]) \quad (1.31)$$

donde  $\rho_{i\sigma}$  corresponde a la densidad del  $i$ -ésimo espín orbital y  $E_{xc}^{approx}$  es cualquier aproximación al funcional de intercambio y correlación que no es libre de autointeracción. De esta ecuación es evidente que el funcional de intercambio y correlación es dependiente de cada espín-orbital y sólo se aplica a los estados ocupados. Esta aproximación<sup>18</sup> se ha utilizado para estudiar moléculas diatómicas, así mismo se ha aplicado ampliamente al estudio de átomos, con el fin de obtener energías orbitales, energías totales y potenciales de intercambio y correlación.

Otro método utilizado para corregir la autointeracción es el propuesto por Krieger, Li

e Iafrate, (KLI), con un *potencial efectivo optimizado* (OEP por sus siglas en inglés)<sup>19-21</sup> el cual se basa principalmente en obtener un potencial local de intercambio y correlación optimizado que contenga la información de los orbitales ocupados,  $N_{occ}$ , de manera que el problema se resuelva de forma iterativa.

Por lo tanto el potencial OEP, debe satisfacer la ecuación diferencial

$$\left(-\frac{1}{2}\nabla^2 + V_\sigma^{OEP}(\vec{r})\right)\psi_i^\sigma(\vec{r}) = \varepsilon_i^\sigma \psi_i^\sigma(\vec{r}) \quad (1.32)$$

donde el potencial  $V_\sigma^{OEP}(\vec{r})$ , se obtiene al imponer la siguiente condición

$$\left.\frac{\delta E^{OEP}[\{\psi_i^\alpha, \psi_j^\beta\}]}{\delta V_\sigma(\vec{r})}\right|_{V_\sigma^{OEP}} = 0, \quad (1.33)$$

con

$$E^{OEP}[\{\psi_i^\alpha, \psi_j^\beta\}] = T_s[\{\psi_i^\alpha, \psi_j^\beta\}] + J[\{\psi_i^\alpha, \psi_j^\beta\}] + E_{xc}[\{\psi_i^\alpha, \psi_j^\beta\}] + \int \rho(\vec{r})v(\vec{r})d\vec{r} \quad (1.34)$$

De la ecuación (1.34) se puede ver que tiene la misma forma que el funcional de energía de Kohn-Sham, dado que la energía total es un funcional de la densidad y  $\rho(\vec{r})$  se determina con los espín orbitales  $\{\psi_i^\alpha, \psi_j^\beta\}$ . La minimización de la energía con respecto a  $V^{OEP}$  conduce a ecuaciones integrales complejas, por esta razón Krieger, Li e Iafrate proponen una solución a estas ecuaciones, simplificando el cálculo del potencial  $V_\sigma^{OEP}$  a través de la solución de ecuaciones lineales simples.<sup>19-21</sup> El método permite obtener un potencial efectivo optimizado libre de autointeracción. La ecuación diferencial a resolver en la aproximación KLI-OEP es

$$\left(-\frac{1}{2}\nabla^2 + \int d\vec{r}' \frac{\rho(\vec{r}')}{|\vec{r}-\vec{r}'|} + v(\vec{r}) + V_{xc\sigma}^{OEP-KLI}(\vec{r})\right)\psi_i^\sigma(\vec{r}) = \varepsilon_i^\sigma \psi_i^\sigma(\vec{r}) \quad (1.35)$$

donde el potencial  $V_{xc\sigma}^{OEP-KLI}(\vec{r})$  se obtiene por,

$$V_{xc\sigma}^{OEP-KLI}(\vec{r}) = \sum_{i=1}^{N_\sigma} \frac{\rho_i^\sigma(\vec{r}) u_{xc}^{i\sigma}(\vec{r})}{\rho^\sigma(\vec{r})} + \sum_{\substack{i=1 \\ i \neq \text{HOMO}_\sigma}}^{N_\sigma} \frac{\rho_i^\sigma(\vec{r}) [\bar{V}_{xc\sigma}^{OEP-KLI} - \bar{u}_{xc}^{i\sigma}]}{\rho^\sigma(\vec{r})} \quad (1.36)$$

con

$$u_{xc}^{i\sigma}(\vec{r}) = -\frac{\delta E_{xc}^{approx}[\rho_i^\sigma, 0]}{\delta \rho_i^\sigma} - \int d\vec{r}' \frac{\rho_i^\sigma(\vec{r}')}{|\vec{r} - \vec{r}'|} \quad (1.37)$$

y

$$\bar{u}_{xc}^{i\sigma} = \int d\vec{r} \rho_i^\sigma(\vec{r}) u_{xc}^{i\sigma}(\vec{r}) \quad (1.38)$$

La constante  $\bar{V}_{xc,i\sigma}^{KLI-OEP}$  se obtiene al resolver el siguiente sistema de ecuaciones lineales:

$$\sum_{i=1}^{N_\sigma - \text{HOMO}_\sigma} (\delta_{ij} - M_{ij}^\sigma) (\bar{V}_{sc\sigma}^{OEP-KLI} - \bar{u}_{xc}^{i\sigma}) = \bar{V}_{xc\sigma}^S - \bar{u}_{xc}^{j\sigma} \quad (1.39)$$

$$j = 1, 2, \dots, (N_\sigma - \text{HOMO}_\sigma)$$

donde

$$\bar{V}_{xc\sigma}^S = \int d\vec{r} \rho_{j\sigma}(\vec{r}) \sum_{i=1}^{N_\sigma} \frac{\rho_i^\sigma(\vec{r}) u_{xc}^{i\sigma}(\vec{r})}{\rho^\sigma(\vec{r})} \quad (1.40)$$

y

$$M_{ji}^\sigma = \int d\vec{r} \frac{\rho_j^\sigma(\vec{r}) \rho_i^\sigma(\vec{r})}{\rho^\sigma(\vec{r})} \quad (1.41)$$

como se mencionó anteriormente, para encontrar el *potencial efectivo optimizado* se debe seguir un proceso iterativo, en el cual parte de un conjunto inicial de espín-orbitales se utiliza para evaluar las constantes definidas en las ecuaciones (1.38), (1.40) y (1.41) y se determina el valor  $\bar{V}_{xc,i\sigma}^{KLI-OEP}$  con la ecuación (1.39), este valor se usa para calcular el potencial efectivo optimizado  $V_{xc,\sigma}^{KLI-OEP}$  de la ecuación (1.36); y al sustituir este potencial en la ecuación (1.35) se obtiene un nuevo conjunto de espín-orbitales. El proceso iterativo autoconsistente continua hasta la convergencia del potencial.

Tong y Chu<sup>22,23</sup> proponen incorporar el método de Perdew-Zunger (PZ-SIC) con el de

Krieger, Li e Iafrate (KLI-OEP), generando el método SIC-OEP cuya característica es la de obtener el mismo potencial local para todos los orbitales, con el comportamiento asintótico correcto. El funcional de energía total con corrección a la autointeracción (SIC) está definido como

$$E_{SIC}^{OEP}[\{\psi_i^\alpha, \psi_j^\beta\}] = E^{OEP}[\{\psi_i^\alpha, \psi_j^\beta\}] - \sum_{\sigma} \sum_i J[\rho_i^\sigma] + E_{xc}[\rho_i^\sigma, 0] \quad (1.42)$$

donde  $E^{OEP}$  está definido en la ecuación (1.34) y el potencial efectivo optimizado se obtiene al resolver la siguiente ecuación

$$V_{SIC}^{OEP}(\vec{r}) = v_{ext}(\vec{r}) + \int d^3\vec{r}' \frac{\rho(\vec{r}')}{|\vec{r} - \vec{r}'|} + \frac{\delta E_{xc}[\rho_\alpha, \rho_\beta]}{\delta \rho_\sigma(\vec{r})} + V_{SIC,\sigma}(\vec{r}) \quad (1.43)$$

con

$$u_{xc}^{i\sigma}(\vec{r}) = - \int d^3\vec{r}' \frac{\rho_{i\sigma}(\vec{r}')}{|\vec{r} - \vec{r}'|} - \frac{\delta E_{xc}^{approx}[\rho_{i\sigma}, 0]}{\delta \rho_{i\sigma}(\vec{r})} \quad (1.44)$$

Garza y colaboradores<sup>24,25</sup> proponen que para resolver las ecuaciones KLI en el método SIC-OEP, las constantes  $M_{ji,\sigma}$  y  $V_{xc,\sigma}$  pueden ser evaluadas algebraicamente. Este método es utilizado para calcular la diferencia de energía de los orbitales HOMO-LUMO de átomos y moléculas pequeñas y los resultados obtenidos son una buena estimación de la primera energía de excitación de estos sistemas.

### 1.1.5. Teorema de Janak.

Los valores propios en la teoría Hartree-Fock representan una aproximación a la energía necesaria para añadir o eliminar un electrón de un orbital de acuerdo al teorema de Koopmans'.<sup>26</sup> Janak por su parte desarrolló un teorema alternativo al de Koopmans aplicable al método de Kohn-Sham en 1978.<sup>27</sup> Como se mencionó anteriormente en la Teoría de Funcionales de la Densidad, la energía total es un funcional de la densidad electrónica  $\rho(\vec{r})$  de acuerdo con la ecuación 1.5, por lo tanto al minimizar la energía total respecto de la



densidad, considerando que la densidad depende a su vez de los orbitales de KS tenemos

$$\left[-\frac{1}{2}\nabla^2 + V_H(\vec{r}) + v_{xc}(\vec{r})\right]\psi_i(\vec{r}) = \varepsilon_i\psi_i(\vec{r}) \quad (1.45)$$

Con el fin de encontrar el significado de los valores propios de Kohn-Sham,  $\varepsilon_i$ , es necesario definir un número total de partículas fraccional. Para ello el funcional de energía puede ser escrito en términos de las ocupaciones fraccionales de la siguiente manera

$$\tilde{E} \equiv \tilde{T} + J[\rho] + E_{xc}[\rho] \quad (1.46)$$

donde  $J[\rho]$  tiene la forma de la ecuación 1.3 y junto con  $E_{xc}$  dependen del conjunto de  $n_i$  a través de la siguiente ecuación

$$\rho(\vec{r}) = \sum_{i=1} |\psi_i(\vec{r})|^2 = \sum_{i=1} n_i |\psi_i(\vec{r})|^2 \quad (1.47)$$

$n_i$  corresponde a la ocupación de los orbitales de Kohn-Sham, y la densidad del estado basal corresponde a la ocupación de los orbitales de Kohn-Sham que da origen a la energía más baja.

El funcional de la energía de la ecuación 1.46 se minimiza con respecto al número de ocupación, donde se debe satisfacer

$$\sum_{i=1} n_i = N \text{ con } 0 \leq n_i \leq 1 \quad (1.48)$$

El término de la energía cinética es definido como

$$T_s[\rho] = \sum_{i=1}^N t_i \quad (1.49)$$

para lo cual la cantidad  $t_i$  se introduce con la forma

$$t_i = \int \psi_i^* (-\nabla)^2 \psi_i d\vec{r} = \varepsilon_i - \int \psi_i^* (V_H + v_{xc}) \psi_i d\vec{r} \quad (1.50)$$

donde  $V_H \equiv \delta J / \delta \rho(\vec{r})$  corresponde al potencial coulombico y  $v_{xc} \equiv \delta E_{xc} / \delta \rho(\vec{r})$  es el potencial de intercambio y correlación.

Si se considera  $n_i$  como un parámetro se introduce un conjunto de  $n_i$ , incluyendo los valores no enteros de  $n_i$ . Por lo que se define

$$\tilde{T} \equiv \sum_i n_i t_i \quad (1.51)$$

Por otro lado, si variamos  $\tilde{E}$  respecto a  $n_i$  tenemos

$$\frac{\partial \tilde{E}}{\partial n_i} = t_i + \sum_j n_j \frac{\partial t_j}{\partial n_i} + \int (v_H + v_{xc}) \left( |\psi_i|^2 + \sum_j n_j \frac{\partial |\psi_j|^2}{\partial n_i} d\vec{r} \right) \quad (1.52)$$

Sin embargo, introduciendo la segunda parte de la ecuación 1.50 y factorizando la suma, tenemos que

$$\frac{\partial \tilde{E}}{\partial n_i} = \varepsilon_i + \sum_j n_j \left( \frac{\partial t_j}{\partial n_i} + \int (v_H + v_{xc}) \frac{\partial |\psi_j|^2}{\partial n_i} d\vec{r} \right) \quad (1.53)$$

recordemos que

$$\frac{\partial t_j}{\partial n_i} = \int \frac{\partial \psi_j^*}{\partial n_i} (-\nabla^2) \psi_j d\vec{r} + c.c. \quad (1.54)$$

por lo tanto la ecuación 1.53 puede ser reescrita como

$$\frac{\partial \tilde{E}}{\partial n_i} = \varepsilon_i + \sum_j n_j \left( \int \frac{\partial \psi_j^*}{\partial n_i} (-\nabla^2 + v_H + v_{xc}) \psi_j d\vec{r} + c.c. \right) \quad (1.55)$$

de acuerdo a la ecuación 1.45, se tiene que el último término de la ecuación 1.55

$$\sum_j n_j \varepsilon_j \frac{\partial}{\partial n_i} \int |\psi_j|^2 d\vec{r} = 0 \quad (1.56)$$

y, debido a que  $\psi_i$  está normalizada, se tiene que

$$\frac{\partial \tilde{E}}{\partial n_i} = \varepsilon_i \quad (1.57)$$

lo cual indica que se tiene asociado un valor de la energía para la ocupación  $i$  y que es independiente de la forma que tenga el funcional de intercambio y correlación  $v_{xc}[\rho(\vec{r})]$

## 1.2. Reactividad Química.

En los últimos años la Teoría de Funcionales de la Densidad ha dado pie a la introducción de parámetros de reactividad química, los cuales son cantidades que se expresan en términos de derivadas de la energía y de la densidad electrónica con respecto al número de electrones y al potencial externo. La electronegatividad,  $\chi$ ,<sup>28</sup> la dureza química,  $\eta$ ,<sup>29,30</sup> la electrofilia,  $\omega$ ,<sup>31</sup> y el potencial químico,  $\mu$ ,<sup>1</sup> son conocidos como parámetros de reactividad global, debido a que describen la reactividad de la molécula como un todo. Por otra parte, se tienen parámetros de reactividad local como las funciones de Fukui,  $f(\vec{r})$ ,<sup>32,33</sup> la electrofilicidad local,  $\omega(\vec{r})$ ,<sup>34</sup> y la blandura local,  $s(\vec{r})$ ,<sup>35</sup> entre otros. Estos índices permiten evaluar la selectividad de los sitios atómicos de una molécula en una reacción química.<sup>36-39</sup>

Estas funciones de respuesta locales y globales pueden ser representadas en términos de dos conjuntos de variables  $\{N, N_s, v(\vec{r})\}$  y  $\{N_\alpha, N_\beta, v(\vec{r})\}$  cuya conexión entre ambas representaciones está dada mediante una transformación lineal. Estas representaciones se introducen como un camino alternativo para el análisis de situaciones en las que los cambios de multiplicidad están presentes y para los cuales no pueden utilizarse los descriptores

conocidos hasta el momento definidos en el conjunto  $\{N, v(\vec{r})\}$ .

### 1.2.1. Parámetros de reactividad global.

Dentro del formalismo de la Teoría de Funcionales de la Densidad<sup>1</sup> la energía es una función del número de electrones,  $N$ , y es un funcional del potencial externo,  $v(\vec{r})$ ,  $E = E(N, v(\vec{r}))$ , si suponemos que son diferenciables en  $N$  y  $v$ , se pueden escribir cambios de estados basales de  $(N, v)$  a  $(N+dN, v + dv)$ . Cuando se analizan procesos y derivadas con respecto a  $N$  es importante tomar en cuenta que en el ensamble gran canónico y a temperatura igual a cero ( $T=0$  K), la energía es una serie de líneas rectas que definen distintas derivadas alrededor de un número entero de electrones.

La variación de la energía respecto de  $N$  y  $v(\vec{r})$  se expresan como

$$dE = \mu dN + \int \rho(\vec{r}) v(\vec{r}) d\vec{r}. \quad (1.58)$$

y

$$d\mu = \eta dN + \int v(\vec{r}) f(\vec{r}) d\vec{r} \quad (1.59)$$

donde  $dN$  es el cambio en el número de electrones y  $dv$  es el cambio en el potencial externo.

$\mu$  corresponde al potencial químico electrónico definido como<sup>1</sup>

$$\mu = \left( \frac{\partial E}{\partial N} \right)_{v(\vec{r})} \quad (1.60)$$

Esta cantidad caracteriza la tendencia del sistema a perder o ganar carga. Los electrones fluyen de un potencial químico alto, hacia regiones con un potencial químico bajo, y el flujo se detiene cuando los potenciales químicos se igualan. Las variaciones de  $\mu$  con respecto

al número de electrones a potencial externo fijo están asociados a la *dureza química*<sup>29,30</sup> la cual puede ser definida como una resistencia a la transferencia de carga del sistema, y está dada por

$$\eta = \left( \frac{\partial \mu}{\partial N} \right)_{v(\vec{r})} = \left( \frac{\partial^2 E}{\partial N^2} \right)_{v(\vec{r})} \quad (1.61)$$

Como se mencionó anteriormente las funciones de respuesta espín polarizado se pueden expresar en términos de dos diferentes conjuntos de variables como se muestra a continuación. En el conjunto de variables  $\{N, N_s, v(\vec{r})\}$ <sup>40</sup> el potencial químico esta representado por  $\mu_N$  mientras que  $\mu_s$  representa al potencial de espín los cuales nos indican como es la variación de la energía al variar el número de electrones totales y el número de espín respectivamente

$$\mu_N = \left( \frac{\partial E}{\partial N} \right)_{N_s, v(\vec{r})} \quad (1.62)$$

$$\mu_s = \left( \frac{\partial E}{\partial N_s} \right)_{N, v(\vec{r})} \quad (1.63)$$

El potencial químico,  $\mu$ , es una medida de la tendencia del sistema a aceptar o ceder electrones. Si se evalúa el potencial químico electrónico siguiendo una trayectoria con un número de espín constante permitiendo cambios en la energía por transferencia electrónica se tiene,  $\mu_N$ . En cambio, si se tiene una trayectoria, en donde lo que permanece constante es el número total de electrones,  $N$ , y lo que varía es el número de espín,  $N_s$  lo que se tiene es  $\mu_s$ . Ahora bien,  $\mu_N$  mide la tendencia del sistema a ceder o aceptar carga, cuando el número de espín es constante, mientras que  $\mu_s$  mide la tendencia del sistema a cambiar la polarización del espín, además nos indica que para una valor fijo de  $N$ , los diferentes valores de  $N_s$  se pueden interpretar como diferentes estados de valencia del sistema, por lo tanto, los valores de la derivada de la energía con respecto a  $N_s$  dan una medida de la tendencia del sistema a cambiar a un estado de valencia más favorable para que la reacción se lleve a cabo. Para el caso de la dureza (ecuación 1.61) en el modelo espín polarizado los

correspondientes parámetros son

$$\eta_{NN} = \left( \frac{\partial \mu_N}{\partial N} \right)_{N_S, v(\vec{r})} \quad (1.64)$$

$$\eta_{NS} = \left( \frac{\partial \mu_N}{\partial N_S} \right)_{N, v(\vec{r})} = \left( \frac{\partial \mu_S}{\partial N} \right)_{N_S, v(\vec{r})} = \eta_{SN} \quad (1.65)$$

$$\eta_{SS} = \left( \frac{\partial \mu_S}{\partial N_S} \right)_{N, v(\vec{r})} \quad (1.66)$$

Estos parámetros, son similares a la dureza, en el sentido de que corresponde a una segunda derivada de la energía, pero en este caso las derivadas se realizan con respecto al número total de electrones o al número de espín manteniendo constante una de estas variables.

Por otro lado, en el conjunto de variables  $\{N_\alpha, N_\beta, v(\vec{r})\}$ <sup>41</sup> el potencial químico (ecuación 1.60) se expresa en términos del espín  $\alpha$  y el espín  $\beta$  de manera separada como sigue

$$\mu_\alpha = \left( \frac{\partial E}{\partial N_\alpha} \right)_{N_\beta, v(\vec{r})} \quad (1.67)$$

$$\mu_\beta = \left( \frac{\partial E}{\partial N_\beta} \right)_{N_\alpha, v(\vec{r})} \quad (1.68)$$

En este caso, el potencial químico,  $\mu_\alpha$ , corresponde a la variación de la energía, con respecto a cambios en el número de electrones alfa,  $N_\alpha$ , manteniendo constante el número de electrones beta  $N_\beta$ , mientras que  $\mu_\beta$ , es la variación de la energía con respecto al número de electrones beta  $N_\beta$ , manteniendo fijo el número de electrones alfa  $N_\alpha$ , ahora bien, desde el punto de vista de la reactividad química, estas cantidades nos indican la tendencia del sistema a aceptar o ceder electrones con espín alfa o beta respectivamente.

Por otro lado, podemos por ejemplo escribir los cambios a través de un desarrollo en series de Taylor a primer orden en la energía total al variar el número total de electrones de espín alfa, de la siguiente manera:

$$\Delta E \simeq \left( \frac{\partial E}{\partial N_\alpha} \right)_{N_\beta, v(\vec{r})} \Delta N_\alpha \quad (1.69)$$

de esta forma, a partir de la ecuación 1.67 la ecuación 1.69 puede ser reescrita como:

$$\Delta E \simeq \mu_\alpha^+ \Delta N_\alpha \quad (1.70)$$

donde esta expresión corresponde al caso en que un electrón alfa es adicionado al sistema, sin embargo también se debe considerar el caso en que un electrón alfa es removido de este mismo sistema. Hay que recordar que esta ecuación también puede ser escrita en términos del número total de electrones de espín beta.

Los índices asociados a la dureza química (ecuación 1.61) corresponden a

$$\eta_{\alpha\alpha} = \left( \frac{\partial \mu_\alpha}{\partial N_\alpha} \right)_{N_\beta, v(\vec{r})} \quad (1.71)$$

$$\eta_{\alpha\beta} = \left( \frac{\partial \mu_\alpha}{\partial N_\beta} \right)_{N_\alpha, v(\vec{r})} = \left( \frac{\partial \mu_\beta}{\partial N_\alpha} \right)_{N_\beta, v(\vec{r})} = \eta_{\beta\alpha} \quad (1.72)$$

$$\eta_{\beta\beta} = \left( \frac{\partial \mu_\beta}{\partial N_\beta} \right)_{N_\alpha, v(\vec{r})} \quad (1.73)$$

### 1.2.2. Parámetros de reactividad local.

Los descriptores de reactividad local se utilizan para explicar la selectividad de los sitios reactivos en las moléculas.<sup>36-38</sup> Dentro de los descriptores locales, uno de los más útiles es la *función de fukui*,<sup>32,33</sup> que se define como

$$f(\vec{r}) = \left( \frac{\partial \rho(\vec{r})}{\partial N} \right)_{v(\vec{r})} = \left( \frac{\delta \mu}{\delta v(\vec{r})} \right)_N \quad (1.74)$$

Esta cantidad mide la sensibilidad del potencial químico electrónico frente a una perturbación externa localizada,  $\delta v(\vec{r})$ . La función de fukui también cuantifica las variaciones

sobre la densidad electrónica, en cada punto del espacio, cuando el sistema recibe o dona electrones mientras interacciona con su entorno.

La discontinuidad en las derivadas da pie a que se introduzcan cantidades que dependen de la direccionalidad del cambio en el número de electrones. Por ejemplo, cuando se toma en cuenta esta discontinuidad en la derivada de la densidad respecto al número de electrones, se generan tres expresiones para la función de Fukui

$$f^\xi(\vec{r}) = \left( \frac{\partial \rho(\vec{r})}{\partial N} \right)_{v(\vec{r})}^\xi \quad (1.75)$$

donde  $\xi = 0, +, -$ . En el punto  $\vec{r}$ ,  $f^+(\vec{r})$  mide la reactividad para un ataque nucleofílico,  $f^-(\vec{r})$  mide la reactividad para un ataque electrofílico y  $f^0(\vec{r})$  describe la interacción entre especies neutras o un ataque por radicales libres.

En la representación  $\{N, N_s, v(\vec{r})\}$ <sup>40</sup> las diferentes funciones generalizadas de Fukui están definidas como

$$f_{NN}(\vec{r}) = \left( \frac{\partial \rho(\vec{r})}{\partial N} \right)_{N_s, v(\vec{r})} \quad (1.76)$$

$$f_{NS}(\vec{r}) = \left( \frac{\partial \rho(\vec{r})}{\partial N_s} \right)_{N, v(\vec{r})} \quad (1.77)$$

$$f_{SN}(\vec{r}) = \left( \frac{\partial \rho_S(\vec{r})}{\partial N} \right)_{N_s, v(\vec{r})} \quad (1.78)$$

$$f_{SS}(\vec{r}) = \left( \frac{\partial \rho_S(\vec{r})}{\partial N_s} \right)_{N, v(\vec{r})} \quad (1.79)$$

Dentro de esta aproximación se puede ver que  $f_{NS}(\vec{r})$  y  $f_{SS}(\vec{r})$  proveen información de la respuesta inicial de un sistema a cada tipo de ataque, ya que mide los cambios de la densidad total,  $\rho(\vec{r})$ , o, de la densidad de espín,  $\rho_S(\vec{r})$ , con respecto a los cambios en el número total de electrones,  $N$ , o el número de espín,  $N_s$ .

Aunque el número de electrones del sistema puede aumentar o disminuir, también



podrían ocurrir cambios en la densidad dados por el cambio en el número de electrones de un determinado espín. Así, es posible establecer funciones de Fukui para cada proceso que se quiere representar. Por lo tanto en el caso de la representación  $\{N_\alpha, N_\beta, v(\vec{r})\}$ <sup>41</sup> las correspondientes funciones de Fukui están dadas por

$$f_{\alpha\alpha}(\vec{r}) = \left( \frac{\partial \rho_\alpha(\vec{r})}{\partial N_\alpha} \right)_{N_\beta, v(\vec{r})} \quad (1.80)$$

$$f_{\beta\beta}(\vec{r}) = \left( \frac{\partial \rho_\beta(\vec{r})}{\partial N_\beta} \right)_{N_\alpha, v(\vec{r})} \quad (1.81)$$

$$f_{\alpha\beta}(\vec{r}) = \left( \frac{\partial \rho_\alpha(\vec{r})}{\partial N_\beta} \right)_{N_\alpha, v(\vec{r})} \quad (1.82)$$

$$f_{\beta\alpha}(\vec{r}) = \left( \frac{\partial \rho_\beta(\vec{r})}{\partial N_\alpha} \right)_{N_\beta, v(\vec{r})} \quad (1.83)$$

En esta formulación los cambios en la densidad electrónica total relacionados a la transferencia de electrones de una simetría de espín en particular, están mediadas por las funciones de Fukui generalizadas de acuerdo a las siguientes ecuaciones

$$\Delta\rho(\vec{r}) \cong \left\{ \left( \frac{\partial \rho_\alpha(\vec{r})}{\partial N_\alpha} \right)_{N_\beta, v(\vec{r})} + \left( \frac{\partial \rho_\beta(\vec{r})}{\partial N_\alpha} \right)_{N_\beta, v(\vec{r})} \right\} \Delta N_\alpha \quad (1.84)$$

$$\Delta\rho(\vec{r}) \cong \left\{ \left( \frac{\partial \rho_\alpha(\vec{r})}{\partial N_\beta} \right)_{N_\alpha, v(\vec{r})} + \left( \frac{\partial \rho_\beta(\vec{r})}{\partial N_\beta} \right)_{N_\alpha, v(\vec{r})} \right\} \Delta N_\beta \quad (1.85)$$

En este caso, el efecto de ganar o perder electrones de una simetría de espín específico depende de dos funciones de Fukui generalizadas. Por ejemplo, si un sistema cambia electrones de espín alfa por  $\Delta N_\alpha$ , entonces los cambios en la densidad total están relacionados al término que toma en cuenta las modificaciones de  $\rho_\alpha(\vec{r})$  con respecto a  $N_\alpha$  y el término que incluye las modificaciones en  $\rho_\beta(\vec{r})$  con respecto a  $N_\alpha$ . Entonces, las funciones generalizadas de Fukui son coeficientes locales de sensibilidad, asociadas a modificaciones en la

densidad total debidas a las transferencias de carga espín polarizado. Como se ha señalado, hay una discontinuidad en las derivadas de la energía como función del número de electrones alfa y beta. Entonces es necesario distinguir las derivadas para los procesos en los cuales el número de electrones aumenta de aquellos en los que disminuye, y esto es aplicable a ambas simetrías de espín. Entonces hay dos opciones para cada derivada de las ecuaciones 1.84 y 1.85.

### 1.2.3. Propuesta de posibles formas de ordenar los potenciales químicos para que se lleve a cabo la transferencia electrónica.

En esta sección se presenta un análisis sobre los posibles ordenamientos que presenta el potencial químico si consideramos la interacción entre dos sistemas que intercambian electrones de las dos simetrías de espín  $(\alpha, \beta)$  para que se lleve a cabo la transferencia electrónica.

En el modelo de Khon-Sham espín polarizado la energía se puede considerar una función del número de electrones de cada tipo de espín y del potencial externo,  $E[N_\alpha, N_\beta, v(\vec{r})]$ . Si se considera que el potencial externo es constante, un cambio en la energía a segundo orden respecto de los cambios en los números de electrones, a potencial externo fijo, se puede escribir como:

$$\Delta E \approx \left(\frac{\partial E}{\partial N_\alpha}\right)_{N_\beta} \Delta N_\alpha + \left(\frac{\partial E}{\partial N_\beta}\right)_{N_\alpha} \Delta N_\beta + \frac{1}{2} \left(\frac{\partial^2 E}{\partial N_\alpha^2}\right)_{N_\beta} (\Delta N_\alpha)^2 + \frac{1}{2} \left(\frac{\partial^2 E}{\partial N_\beta^2}\right)_{N_\alpha} (\Delta N_\beta)^2 + \frac{1}{2} \left(\frac{\partial^2 E}{\partial N_\alpha \partial N_\beta}\right) (\Delta N_\alpha \Delta N_\beta) \quad (1.86)$$

en esta ecuación todas las derivadas se evalúan a potencial externo constante.

Si ahora consideramos la interacción de dos sistemas que intercambian electrones de las dos simetrías de espín, tal y como se muestra en la figura 1.1, el cambio total de energía se puede aproximar como

$$\Delta E_T = \Delta E^A + \Delta E^B \quad (1.87)$$

donde cada sumando en la parte derecha de la ecuación 1.87 se puede reescribir en la forma:

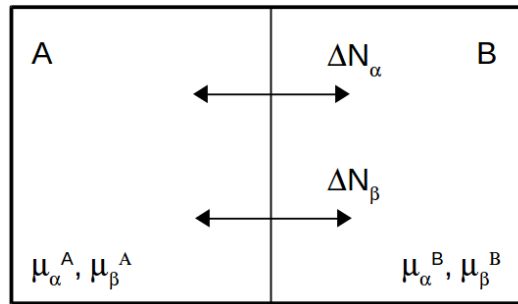
$$\Delta E^i \approx \mu_\alpha^i \Delta N_\alpha^i + \mu_\beta^i \Delta N_\beta^i + \frac{1}{2} \eta_{\alpha\alpha}^i (\Delta N_\alpha^i)^2 + \frac{1}{2} \eta_{\beta\beta}^i (\Delta N_\beta^i)^2 \quad (1.88)$$

si se considera que el término cruzado es pequeño y se utiliza la notación estándar para las derivadas que aparecen en la ecuación 1.86.

Si el sistema completo de la figura 1.1 es cerrado, partimos de la suposición de que los cambios en los números de electrones están asociados de acuerdo con las siguientes relaciones:  $\Delta N_\alpha^A = -\Delta N_\alpha^B$  y  $\Delta N_\beta^A = -\Delta N_\beta^B$ ; de esta forma el cambio total de la energía de la ecuación 1.86 se puede expresar como:

$$\Delta E_T \approx (\mu_\alpha^A - \mu_\alpha^B) \Delta N_\alpha^A + (\mu_\beta^A - \mu_\beta^B) \Delta N_\beta^A + \frac{1}{2} (\eta_{\alpha\alpha}^A + \eta_{\alpha\alpha}^B) (\Delta N_\alpha^A)^2 + \frac{1}{2} (\eta_{\beta\beta}^A + \eta_{\beta\beta}^B) (\Delta N_\beta^A)^2 \quad (1.89)$$

Esta expresión está relacionada con el cambio inicial de energía cuando se permite que los dos sistemas intercambien electrones y tiene sentido en el inicio del proceso de transferencia de carga cuando es posible considerar que los potenciales químicos y las durezas de espín no han cambiado significativamente. Por otro lado, se puede suponer que el sistema cambiará de



**Figura 1.1:** A y B representan dos sistemas que intercambian electrones de espín  $\alpha$  y espín  $\beta$ .

forma tal que la energía total decrece. Si se toma como la situación final de esta primera etapa de transferencia de electrones a aquella donde la energía alcanza un mínimo, se pueden evaluar los cambios en los números de electrones de las dos simetrías de espín si se minimiza la ecuación 1.89 respecto de esas dos variables. Este proceso de minimización da como resultado las siguientes expresiones para los cambios en los números de electrones de las dos simetrías de espín

$$\Delta N_{\alpha}^A = -\frac{(\mu_{\alpha}^A - \mu_{\alpha}^B)}{(\eta_{\alpha\alpha}^A + \eta_{\alpha\alpha}^B)} \quad (1.90)$$

$$\Delta N_{\beta}^A = -\frac{(\mu_{\beta}^A - \mu_{\beta}^B)}{(\eta_{\beta\beta}^A + \eta_{\beta\beta}^B)} \quad (1.91)$$

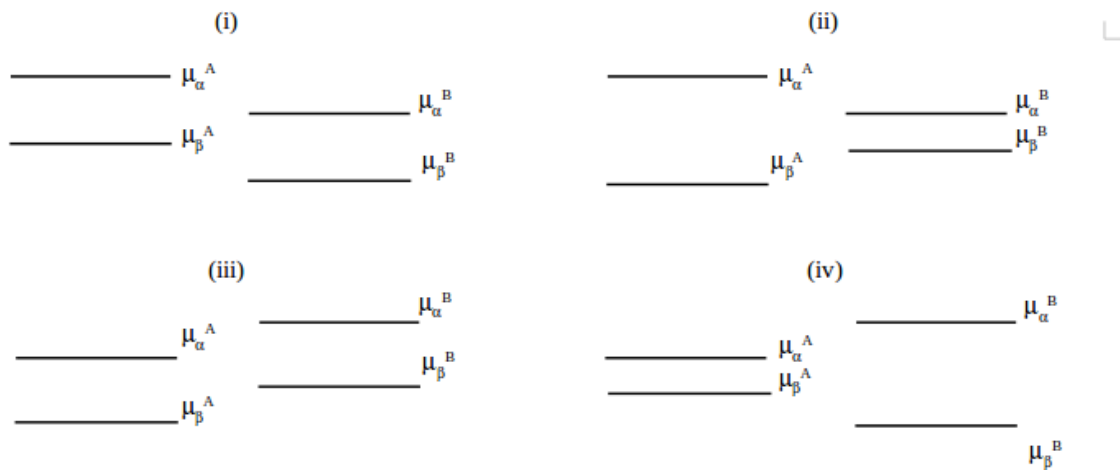
y para la energía

$$\Delta E_T^M = -\frac{(\mu_{\beta}^A - \mu_{\beta}^B)^2(\eta_{\alpha\alpha}^A + \eta_{\alpha\alpha}^B) + (\mu_{\alpha}^A - \mu_{\alpha}^B)^2(\eta_{\beta\beta}^A + \eta_{\beta\beta}^B)}{2(\eta_{\alpha\alpha}^A + \eta_{\alpha\alpha}^B)(\eta_{\beta\beta}^A + \eta_{\beta\beta}^B)} \quad (1.92)$$

la ecuación 1.92 se puede simplificar y reescribir de la siguiente manera:

$$\Delta E_T^M = -\frac{(\mu_{\beta}^A - \mu_{\beta}^B)^2}{(\eta_{\beta\beta}^A + \eta_{\beta\beta}^B)} - \frac{(\mu_{\alpha}^A - \mu_{\alpha}^B)^2}{(\eta_{\alpha\alpha}^A + \eta_{\alpha\alpha}^B)} \quad (1.93)$$

Hay que recordar que las expresiones anteriores son similares a las que se obtienen en el caso espín restringido. Durante el proceso inicial de transferencia electrónica, los electrones de cada sistema tienen diferentes potenciales químicos de espín, adicionalmente a la diferencia que hay entre los electrones de diferente espín dentro de cada sistema. Las posibilidades de alineamiento para los cuatro potenciales químicos de espín involucrados se esquematizan en la figura 1.2. Cada alineamiento define el signo de las diferencias entre los potenciales químicos de los dos sistemas interactuantes para cada simetría de espín; estas cantidades aparecen en las ecuaciones 1.90 a 1.93. El análisis de los casos posibles están contenidos en las ecuaciones 1.90 a 1.93. Se debe tomar en cuenta que como se ha



**Figura 1.2:** Posibles formas de ordenar los cuatro potenciales químicos de espín involucrados en la transferencia electrónica.

mencionado anteriormente, en principio, existen discontinuidades en el comportamiento de la energía como función de los números de electrones de espín alfa y beta; las derivadas en la dirección de crecimiento del número de electrones son diferentes a las correspondientes en la dirección de disminución. En la tabla 1.1 se muestra un resumen de estas posibilidades. En esta tabla, en la primera columna cada caso corresponde a un tipo posible de transferencia de electrones, la segunda columna establece, para cada caso, condiciones para los cambios en los números de electrones descritos por las ecuaciones 1.90 y 1.91. Si se impone, adicionalmente, la condición de que el cambio en la energía total (ecuación 1.93) sea negativo, se pueden encontrar restricciones para los posibles valores de las sumas de las durezas de espín,

$$\eta_{\alpha\alpha}^{AB} \equiv \eta_{\alpha\alpha}^A + \eta_{\alpha\alpha}^B \quad (1.94)$$

y

$$\eta_{\beta\beta}^{AB} \equiv \eta_{\beta\beta}^A + \eta_{\beta\beta}^B \quad (1.95)$$

**Tabla 1.1: Procesos de transferencia electrónica y sus correspondientes potenciales químicos y durezas. El superíndice indica el sistema y la dirección que toman las derivadas: + corresponde a la dirección de incremento y - a la de decremento.**

Caso	Transferencia electrónica	Sistema A				Sistema B			
1	$\Delta N_{\alpha}^A > 0; \Delta N_{\beta}^A > 0$	$\mu_{\alpha}^{A+}$	$\mu_{\beta}^{A+}$	$\eta_{\alpha\alpha}^{A+}$	$\eta_{\beta\beta}^{A+}$	$\mu_{\alpha}^{B-}$	$\mu_{\beta}^{B-}$	$\eta_{\alpha\alpha}^{B-}$	$\eta_{\beta\beta}^{B-}$
2	$\Delta N_{\alpha}^A > 0; \Delta N_{\beta}^A < 0$	$\mu_{\alpha}^{A+}$	$\mu_{\beta}^{A-}$	$\eta_{\alpha\alpha}^{A+}$	$\eta_{\beta\beta}^{A-}$	$\mu_{\alpha}^{B-}$	$\mu_{\beta}^{B+}$	$\eta_{\alpha\alpha}^{B-}$	$\eta_{\beta\beta}^{B+}$
3	$\Delta N_{\alpha}^A < 0; \Delta N_{\beta}^A > 0$	$\mu_{\alpha}^{A-}$	$\mu_{\beta}^{A+}$	$\eta_{\alpha\alpha}^{A-}$	$\eta_{\beta\beta}^{A+}$	$\mu_{\alpha}^{B+}$	$\mu_{\beta}^{B-}$	$\eta_{\alpha\alpha}^{B+}$	$\eta_{\beta\beta}^{B-}$
4	$\Delta N_{\alpha}^A < 0; \Delta N_{\beta}^A < 0$	$\mu_{\alpha}^{A-}$	$\mu_{\beta}^{A-}$	$\eta_{\alpha\alpha}^{A-}$	$\eta_{\beta\beta}^{A-}$	$\mu_{\alpha}^{B+}$	$\mu_{\beta}^{B+}$	$\eta_{\alpha\alpha}^{B+}$	$\eta_{\beta\beta}^{B+}$

que aparecen en las ecuaciones 1.90 a 1.93.

Se debe notar que en la tercera y cuarta columnas los potenciales químicos y las durezas tienen asociado un superíndice (A, B y +, -) que indican el sistema y la dirección en que se lleva a cabo la transferencia electrónica. Por ejemplo, para el caso 1, el número de electrones alfa y beta del sistema A aumenta, es decir, este sistema gana electrones y por tanto hay un aumento en A y un decremento en el sistema B.

Cada uno de los casos de transferencia electrónica presentados en la tabla 1.1 está asociado a un posible alineamiento esquematizado en la figura 1.2. Ahora tomemos como ejemplo el alineamiento (i) donde las diferencias entre los potenciales químicos cumplen las condiciones:

$$\mu_{\alpha}^A - \mu_{\alpha}^B > 0; \quad \mu_{\beta}^A - \mu_{\beta}^B > 0 \quad (1.96)$$

Las condiciones para los cambios en los números de electrones de las dos simetrías de espín corresponden al caso 4 de la tabla 1.1, que indica que estos cambios son negativos, debido a que el sistema A está perdiendo carga. De acuerdo a lo anterior, las ecuaciones 1.90 y 1.91 implican que las sumas de las durezas (ecuaciones 1.94 y 1.95) deben ser positivas, lo cual conlleva a un valor negativo de la ecuación 1.93. Para el alineamiento (ii), las condiciones que cumplen los potenciales químicos son

Tabla 1.2: Condiciones que deben satisfacer las sumas de las durezas para que sean congruentes con las transferencias de electrones de los casos de la tabla 1.1 y con un cambio negativo de la energía total; lo anterior de acuerdo con las ecuaciones 1.90 a 1.93

Alineamiento de potenciales químicos de espín	Caso	Condición
(i) $\mu_\alpha^A - \mu_\alpha^B > 0; \mu_\beta^A - \mu_\beta^B > 0$	$\Delta N_\alpha^A < 0$ $\Delta N_\beta^A < 0$	$\eta_{\alpha\alpha}^{AB^{++}} > 0$ $\eta_{\beta\beta}^{AB^{++}} > 0$
(ii) $\mu_\alpha^A - \mu_\alpha^B > 0; \mu_\beta^A - \mu_\beta^B < 0$	$\Delta N_\alpha^A < 0$ $\Delta N_\beta^A > 0$	$\eta_{\alpha\alpha}^{AB^{+-}} > 0$ $\eta_{\beta\beta}^{AB^{+-}} > 0$
(iii) $\mu_\alpha^A - \mu_\alpha^B < 0; \mu_\beta^A - \mu_\beta^B < 0$	$\Delta N_\alpha^A > 0$ $\Delta N_\beta^A > 0$	$\eta_{\alpha\alpha}^{AB^{-+}} > 0$ $\eta_{\beta\beta}^{AB^{-+}} > 0$
(iv) $\mu_\alpha^A - \mu_\alpha^B < 0; \mu_\beta^A - \mu_\beta^B > 0$	$\Delta N_\alpha^A > 0$ $\Delta N_\beta^A < 0$	$\eta_{\alpha\alpha}^{AB^{--}} > 0$ $\eta_{\beta\beta}^{AB^{--}} > 0$

$$\mu_\alpha^A - \mu_\alpha^B > 0; \mu_\beta^A - \mu_\beta^B < 0 \quad (1.97)$$

y los cambios en los números de electrones son

$$\Delta N_\alpha^A < 0; \Delta N_\beta^A > 0 \quad (1.98)$$

Las ecuaciones 1.90, 1.97 y 1.98 implican que las durezas de la ecuaciones 1.94 y 1.95 sean positivas; para cumplir con la condición de que el cambio de energía de la ecuación 1.93 sea negativo. Siguiendo con este tipo de procedimiento se obtiene que para que el cambio en la energía sea negativo las durezas siempre deben ser positivas, como se muestra en la tabla 1.2. En esta tabla se indican explícitamente, por medio del superíndice, las direcciones de derivación para cada cantidad involucrada.

## Capítulo 2

# Objetivos

El efecto que tiene el entorno sobre las propiedades intrínsecas de cationes de metales de transición es un aspecto relevante para su estudio, ya que en los sistemas biológicos la combinación de las propiedades estructurales y el comportamiento debido al ambiente polipeptídico que los rodea son determinantes para su función, regulación y catálisis. Por lo anterior, es importante determinar a través del uso de los parámetros de reactividad en que medida se ven afectadas las propiedades intrínsecas de los cationes en función del entorno que les rodea.

### 2.1. Objetivo General.

Aplicar los conceptos de reactividad química, definidos en la Teoría de Funcionales de la Densidad, para estudiar el impacto de potenciales externos en las propiedades de transferencia de carga y de espín de cationes y átomos de metales de transición.



## 2.2. Objetivos particulares.

1. Analizar el comportamiento de los cationes de metales de transición utilizando un modelo de átomos confinados.
2. Analizar el efecto de la primera y segunda esfera de coordinación del sitio catalítico de las enzimas FeSOD, MnSOD y las quimeras Mn(Fe)SOD en estado de oxidación 2+ y 3+, sobre los parámetros de reactividad química globales y locales.
3. Analizar el efecto de potenciales electrostáticos efectivos en las propiedades electrónicas de los sitios activos de las enzimas estudiadas.

## 2.3. Hipótesis

El entorno, ya sea polipeptídico o de confinamiento esférico en el que se encuentran los cationes de metales de transición determina su comportamiento. Variaciones en el tamaño del entorno resultan en cambios en la distribución de la densidad electrónica y de espín en la zona del metal. Al usar parámetros de reactividad química globales y locales derivados de la Teoría de Funcionales de la Densidad; podremos identificar la importancia del tamaño del entorno, así como la viabilidad de la enzima para realizar su actividad catalítica diferenciada por espín.

1. El impacto de incluir el término de la energía de correlación a través de un funcional de intercambio y correlación presenta pequeñas variaciones a los parámetros de reactividad evaluados en el modelo de átomos confinados.
2. La disminución del tamaño del entorno polipeptídico debe cambiar la capacidad del sistema para realizar su actividad catalítica. El uso de parámetros de reactividad intrínseca nos permitirá ver si las distintas enzimas evaluadas mantienen una ten-

dencia y un orden relativo sobre su actividad catalítica tanto en su evaluación global como en la parte local.

3. La forma del potencial electrostático efectivo ayudará a predecir que tanto varían los parámetros de reactividad química con respecto a modelos que consideran todos los átomos y todos los electrones.



## Capítulo 3

# Átomos Confinados

En este capítulo se presenta un estudio teórico sobre el efecto del confinamiento en la reactividad química de cationes de metales de transición de la primera fila utilizando un modelo de confinamiento esférico.

### 3.1. Antecedentes.

El interés sobre confinar sistemas de muchos electrones ha aumentado en los últimos años debido a la importancia tecnológica que tienen los átomos o las moléculas en cavidades, tales como las zeolitas,<sup>44</sup> en el almacenamiento reversible de iones en sólidos,<sup>45</sup> en la captura endohedral de fullerenos,<sup>46,47</sup> o bien, en los problemas que implican los átomos o iones bajo altas presiones,<sup>48,49</sup> además de que se conoce que el confinamiento espacial afecta la estructura electrónica, el espectro de energía<sup>50</sup> y la reactividad química de éstos.<sup>51,52</sup>

Durante los últimos años se han propuesto distintos modelos basados en Hartree-Fock (HF) y Kohn-Sham (KS) para el estudio de este tipo de sistemas que permiten simular

los efectos que presentan los átomos al encontrarse confinados. Por ejemplo, Connerade y col.<sup>53</sup> analizan como se llenan las capas de átomos y iones confinados de la tabla periódica con configuración 3d y 4d empleando un modelo numérico basado en HF. Ludeña,<sup>54</sup> por su parte utiliza un modelo HF analítico para estudiar átomos ligeros en un confinamiento esférico. Boeyens<sup>52</sup> reporta radios de ionización de átomos confinados empleando un método numérico Hartree-Fock-Slater. Sen y col.<sup>55</sup> analizan la estructura de capas en átomos confinados empleando un algoritmo numérico en el cual se resuelven las ecuaciones de Kohn-Sham.<sup>56</sup>

Estos estudios han reportado parámetros de reactividad química, tales como el potencial de ionización (I), la afinidad electrónica (A), la electronegatividad ( $\chi$ ), la dureza ( $\eta$ ), la blandura (S), el potencial químico ( $\mu$ ), la electrofilicidad ( $\omega$ ), en condiciones de confinamiento.<sup>49,57-60</sup> También se han reportado la hiperpolarizabilidad ( $\gamma$ ), la polarizabilidad estática ( $\alpha$ ) y la energía de excitación media (Im),<sup>61</sup> para el átomo de hidrógeno confinado.

En los estudios realizados se ha observado que los sistemas tienden a ser más duros y menos polarizables a medida que el radio de corte disminuye; la electronegatividad y la electrofilicidad no son muy sensibles al confinamiento excepto para radios de corte muy pequeños para los que se observa un cambio abrupto; se ha visto que la electronegatividad disminuye en relación al átomo libre. Por otra parte, un efecto del confinamiento que se ha observado sobre la estructura electrónica en átomos es el cruce de diferentes niveles de energía orbital; el impacto de estos cruces en la forma en que los átomos construyen el ambiente químico en sistemas sometidos a presión también ha sido abordado<sup>49,53,62,63</sup>, en el caso de la blandura, se ha observado que esta presenta una disminución en un ambiente confinado con respecto al átomo libre.

La estabilización de un átomo o molécula en un estado de multiplicidad dada se asocia con las diferencias de energía entre dicho estado y el siguiente estado más cercano en multi-

plicidad. Estas diferencias no son equivalentes en la dirección de incrementar el número de electrones desapareados que en la dirección opuesta. La energía de apareamiento en un sistema de capa abierta es la energía que se requiere para cambiar el espín de un electrón para alcanzar el siguiente estado en la dirección de disminuir multiplicidad<sup>64</sup>, y consecuentemente está relacionado con la estabilización del sistema con respecto al siguiente estado en la dirección de disminuir multiplicidad. De hecho, en un modelo simple aplicado a cationes de metales de transición<sup>65,66</sup> la condición para que el ambiente de bajo espín sea más estable que el correspondiente estado de alto espín es  $\Delta > \beta^{-1}\Pi$ , donde  $\Delta$  es el desdoblamiento de los orbitales debido a la presencia de los ligandos (10Dq),  $\beta$  es el número de electrones que cambian su espín en el proceso de pasar de un estado de alto a bajo espín, y  $\Pi$  es el promedio de la energía de apareamiento. En este contexto la energía de apareamiento es útil para racionalizar la estabilización de estados de alto o bajo espín en ambientes de cationes de metales de transición. Se ha podido establecer una conexión directa entre la energía de apareamiento y el potencial de espín. Aprovechando la validez del teorema de Janak<sup>27</sup> bajo condiciones de confinamiento, el potencial de espín puede ser evaluado usando los valores propios de Kohn-Sham<sup>40</sup> y es posible comparar esta estimación con una aproximación de diferencias finitas. En este capítulo se incluyen los resultados del análisis del impacto del confinamiento en el potencial de espín<sup>40</sup> en la dirección de disminuir multiplicidades y la energías de apareamiento<sup>64</sup>. Un objetivo importante es probar el significado físico del potencial de espín como una medida de la capacidad de transferencia de espín bajo condiciones de confinamiento extremo. La evaluación del potencial de espín requiere de las energías de los orbitales frontera de Kohn-Sham, que son un problema importante, ya que muchos potenciales de intercambio-correlación no exhiben un comportamiento asintótico correcto<sup>24,67-71</sup>. Por ésta razón se considera la corrección a la autointeracción en el funcional de intercambio y correlación utilizado en éste capítulo. Esta corrección toma en cuenta el comportamiento asintótico correcto en potenciales de intercambio y correlación<sup>72</sup>,

en particular para sistemas atómicos<sup>24,25</sup> que es nuestro principal objetivo.

### 3.2. Metodología.

La evaluación de los coeficientes de respuesta se hizo utilizando la Teoría de Funcionales de la Densidad espín polarizado en el esquema de Kohn-Sham. En el modelo de átomos confinados utilizado en este estudio, desarrollado por Garza et al.<sup>56</sup>, el confinamiento se realiza empleando una esfera lisa y de paredes rígidas, en la cual la densidad electrónica satisface:

$$\rho(\vec{r}) = \begin{cases} \rho(\vec{r}) & \text{si } r < R_c \\ 0 & \text{si } r \geq R_c \end{cases} \quad (3.1)$$

Los funcionales tipo GGA propuestos por Becke<sup>8</sup> y Lee, Yang y Parr<sup>73</sup> se utilizaron como aproximación al potencial de intercambio y correlación (Exc) en las ecuaciones de Kohn-Sham sin corrección a la autointeracción. Los cálculos se repitieron incluyendo la corrección a la autointeracción (SIC-OEP).<sup>24,25</sup> Se estudiaron los átomos de los metales de transición de la primera fila, así como sus respectivos iones (cuyas configuraciones electrónicas en la capa de valencia van de  $d^2$  hasta  $d^8$ ) para todos ellos, los distintos radios de confinamiento ( $R_c$ ) fueron 2, 6 y 12 u.a. Se construyeron distintas configuraciones manteniendo el número total de electrones y variando el número de espín en las capas más externas de cada átomo y su respectivo catión con el fin de encontrar el estado basal correcto de acuerdo con el funcional utilizado. Por ejemplo, para el caso del átomo neutro de Fe se utilizaron las siguientes configuraciones electrónicas:  $[Ar]3d^64s^2$ ,  $[Ar]3d^74s^1$  y  $[Ar]3d^8$  y se calculó la energía total para cada una de ellas. Después de establecer cual es la configuración electrónica de más baja energía se varió el número de espín  $N_s$  en las direcciones de aumento y disminución de la multiplicidad verificando cual de ellas presenta el estado de mínima energía. En la tabla 3.1 se reporta la configuración electrónica basal y las multiplicidades utilizadas para cada

cación de este estudio.

**Tabla 3.1:** Configuraciones electrónicas del estado basal para los cationes y sus respectivas multiplicidades en la dirección de disminución y aumento de multiplicidad

Catión	Configuración electrónica	multiplicidad
V <sup>2+</sup>	[Ar]3d <sup>3</sup>	2
	[Ar]3d <sup>3</sup>	4
	[Ar]3d <sup>3</sup>	6
V <sup>3+</sup>	[Ar]3d <sup>2</sup>	1
	[Ar]3d <sup>2</sup>	3
	[Ar]3d <sup>2</sup>	5
V <sup>4+</sup>	[Ar]3d <sup>1</sup>	2
	[Ar]3d <sup>1</sup>	4
Cr <sup>2+</sup>	[Ar]3d <sup>4</sup>	3
	[Ar]3d <sup>4</sup>	5
	[Ne]3s <sup>2</sup> 3p <sup>5</sup> 3d <sup>5</sup>	7
Cr <sup>3+</sup>	[Ar]3d <sup>3</sup>	2
	[Ar]3d <sup>3</sup>	4
	[Ne]3s <sup>2</sup> 3p <sup>5</sup> 3d <sup>4</sup>	6
Mn <sup>2+</sup>	[Ar]3d <sup>5</sup>	4
	[Ar]3d <sup>5</sup>	6
	[Ne]3s <sup>2</sup> 3p <sup>5</sup> 3d <sup>5</sup> 4s <sup>1</sup>	8
Mn <sup>3+</sup>	[Ar]3d <sup>4</sup>	3
	[Ar]3d <sup>4</sup>	5
	[Ne]3s <sup>2</sup> 3p <sup>5</sup> 3d <sup>4</sup> 4s <sup>1</sup>	7
Fe <sup>2+</sup>	[Ar]3d <sup>6</sup>	3
	[Ar]3d <sup>6</sup>	5
	[Ar]3d <sup>5</sup> 4s <sup>1</sup>	7
Fe <sup>3+</sup>	[Ar]3d <sup>5</sup>	4
	[Ar]3d <sup>5</sup>	6
	[Ne]3s <sup>2</sup> 3p <sup>5</sup> 3d <sup>5</sup> 4s <sup>1</sup>	8
Co <sup>1+</sup>	[Ar]3d <sup>8</sup>	1
	[Ar]3d <sup>8</sup>	3
	[Ar]3d <sup>7</sup> 4s <sup>1</sup>	5
Co <sup>2+</sup>	[Ar]3d <sup>7</sup>	2
	[Ar]3d <sup>7</sup>	4
	[Ar]3d <sup>6</sup> 4s <sup>1</sup>	6
Co <sup>3+</sup>	[Ar]3d <sup>6</sup>	3
	[Ar]3d <sup>6</sup>	5
	[Ar]3d <sup>5</sup> 4s <sup>1</sup>	7
Co <sup>5+</sup>	[Ar]3d <sup>4</sup>	3
	[Ar]3d <sup>4</sup>	5
	[Ne]3s <sup>2</sup> 3p <sup>5</sup> 3d <sup>5</sup>	7
Ni <sup>2+</sup>	[Ar]3d <sup>8</sup>	1
	[Ar]3d <sup>8</sup>	3
	[Ar]3d <sup>7</sup> 4s <sup>1</sup>	5
Ni <sup>3+</sup>	[Ar]3d <sup>7</sup>	2
	[Ar]3d <sup>7</sup>	4
	[Ar]3d <sup>6</sup> 4s <sup>1</sup>	6
Cu <sup>2+</sup>	[Ar]3d <sup>9</sup>	2
	[Ar]3d <sup>8</sup> 4s <sup>1</sup>	4



Las cantidades que se mencionan a continuación sólo se evaluaron para los cationes. Una estimación de la polarizabilidad ( $\alpha$ ) y de la densidad radial de polarizabilidad ( $\alpha(\vec{r})$ ) fue obtenida mediante las expresiones<sup>74</sup>

$$\alpha \approx \frac{2 \langle r^3 \rangle}{Z} \quad (3.2)$$

$$\alpha(\vec{r}) \approx \frac{8\pi}{Z} r^5 \rho(\vec{r}) \quad (3.3)$$

además se reportan los potenciales químicos de espín,  $\mu_s^-$ ,  $\mu_s^+$ . La evaluación de estas cantidades se realizó mediante una aproximación por diferencias finitas empleando las siguientes expresiones

$$\mu_s^- = \frac{[E(N_s^0) - E(N_s^0 - \Delta N_s)]}{\Delta N_s} \quad (3.4)$$

$$\mu_s^+ = \frac{[E(N_s^0 + \Delta N_s) - E(N_s^0)]}{\Delta N_s} \quad (3.5)$$

y por medio del uso del Teorema de Janak en términos de valores propios<sup>27</sup> a través de las siguientes ecuaciones

$$\mu_s^- = \frac{1}{2}(\varepsilon_{H\alpha} - \varepsilon_{L\beta}) \quad (3.6)$$

$$\mu_s^+ = \frac{1}{2}(\varepsilon_{L\alpha} - \varepsilon_{H\beta}) \quad (3.7)$$

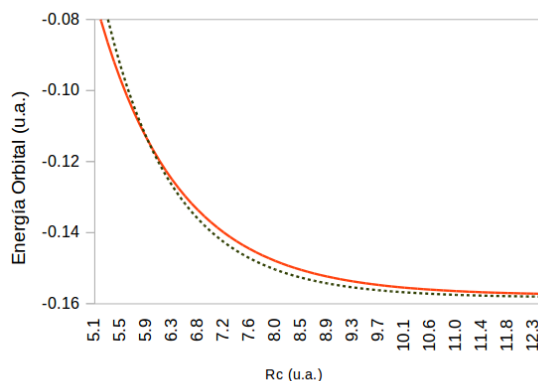
la energía de apareamiento ( $E_a$ ), estimada utilizando una aproximación por diferencias finitas se evaluó usando la siguiente expresión:

$$E_a = [E(N^0, N_s^0) - E(N^0, N_s^0 + \Delta N_s)] \simeq \Delta N_s \mu_s^- \quad (3.8)$$

### 3.3. Discusión y Resultados.

Usaremos el átomo de Fe, como ejemplo, para mostrar que los átomos neutros de la primera fila de metales de transición presentan transiciones electrónicas al ser sometidos a un confinamiento esférico. Estas características son casi las mismas para todos los átomos analizados aquí y es por eso que no se discutirá átomo por átomo.

El comportamiento de las energías orbitales como función del  $R_c$  para el átomo de Fe se muestra en la figura 3.1, la línea roja corresponde al orbital  $3d$  y la línea punteada al orbital  $4s$ . Es evidente que en el límite  $R_c = 12$  el orbital  $4s$ , es más estable, pero también es evidente que hay un cruce de valores propios con el orbital  $3d$  en un intervalo de 5.5 a 6.0 u.a. Estos resultados sugieren que existen transiciones electrónicas para éstos radios de confinamiento, por lo tanto se calcularon 3 configuraciones electrónicas para cada uno de los átomos que se analizaron en este trabajo, debido a que se ha visto que hay pérdida gradual de la estructura de capas a medida que el confinamiento esférico aumenta.<sup>75</sup>

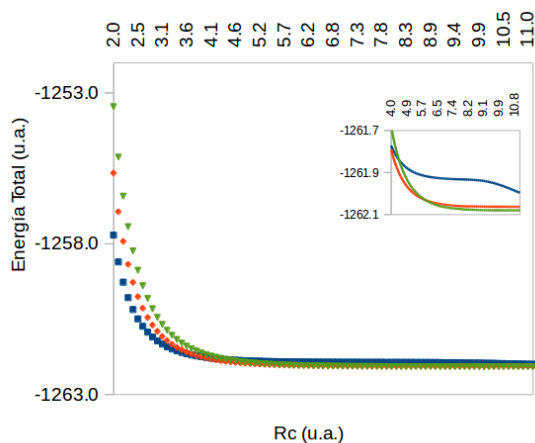


**Figura 3.1:** Energías orbitales (u.a.) contra el radio de confinamiento  $R_c$  para el átomo de Fe. línea roja, orbital  $3d$ , línea punteada, orbital  $4s$ .

Es importante mencionar que para los átomos neutros la convergencia de propiedades similares se consigue para un  $R_c = 12$  u.a.<sup>75</sup>, mientras que para el caso de los cationes

involucrados en este estudio, esta convergencia se alcanza en un  $R_c = 6$  u.a.

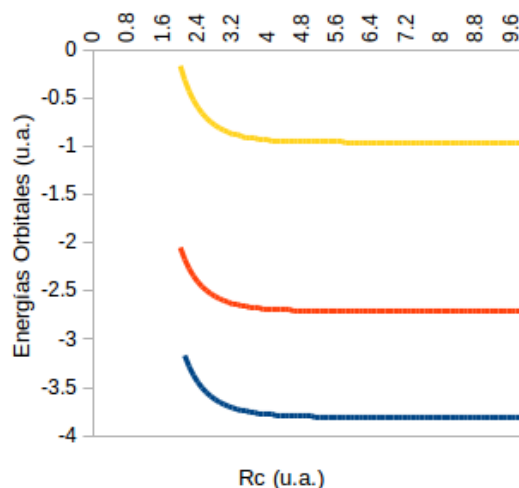
Además en la evaluación de las propiedades definidas en las ecuaciones(3.2-3.8) en el intervalo de  $R_c = 2$  a  $R_c = 12$  u.a. para los cationes analizados en este trabajo, se concluye que para un  $R_c = 6$  u.a. los valores corresponden a los iones libres, dentro de la precisión numérica del método utilizado para resolver las ecuaciones de Kohn-Sham.



**Figura 3.2:** Energía total en función del radio de confinamiento  $R_c$  para las distintas configuraciones del átomo de Fe con corrección a la autointeracción obtenidas con el funcional de intercambio Becke88. línea azul,  $[Ar]3d^8$ , línea roja  $[Ar]3d^7 4s^1$ , línea verde  $[Ar]3d^6 4s^2$ .

Debido a que todas las cantidades de este estudio se comportan bien en el intervalo de  $R_c = 2$  hasta  $R_c = 12$  u.a., se decidió usar estos dos radios de confinamiento como casos límite para llevar a cabo un análisis detallado de los cationes sobre estas dos condiciones de confinamiento. Una que corresponde a una condición de confinamiento extremo y la otra a una condición de átomos libres. El comportamiento de las energías orbitales para la capa de valencia como función del  $R_c$  se presenta en la figura 3.3. Para este caso el catión  $Mn^{2+}$  es un ejemplo de todos los cationes considerados en este trabajo. En contraste con la figura 3.1, no se observan cruces en los valores propios para el conjunto de iones estudiados como se observa en la figura 3.3.

Lo anterior indica que no existen transiciones electrónicas y por lo tanto no hay cambios



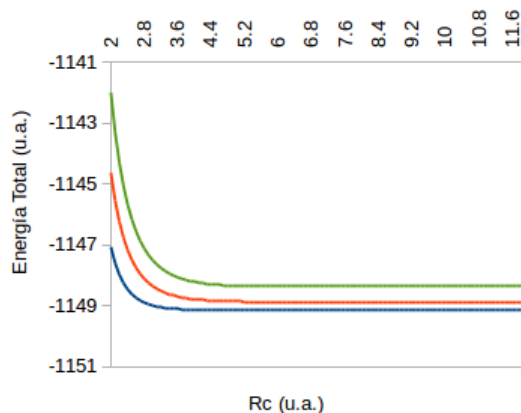
**Figura 3.3:** Energías orbitales para la capa de valencia del catión  $Mn^{2+}$  obtenidos con el funcional de intercambio y correlación BLYP. línea amarilla, 3d, línea naranja, 3p, línea azul, 3s.

de la estructura de capas como en el caso de los átomos neutros.

Además la configuración electrónica basal de los iones libres es la misma que la de los iones bajo confinamiento extremo como se observa en la figura 3.4, en la que se muestran las configuraciones electrónicas calculadas para el ión  $Mn^{2+}$  como un ejemplo de los cationes analizados.

Ahora se presentan los resultados obtenidos en la evaluación de las cantidades descritas por las ecuaciones 3.2 - 3.8. Consecuentemente, iniciaremos con los resultados de las cantidades evaluadas con el funcional de intercambio Becke88. En la figura 3.5 se muestra la comparación de polarizabilidades,  $\alpha$  (u.a.) en un radio de confinamiento  $R_c = 2$  con los obtenidos en un  $R_c = 12$  para nuestra muestra de cationes de metales de transición.

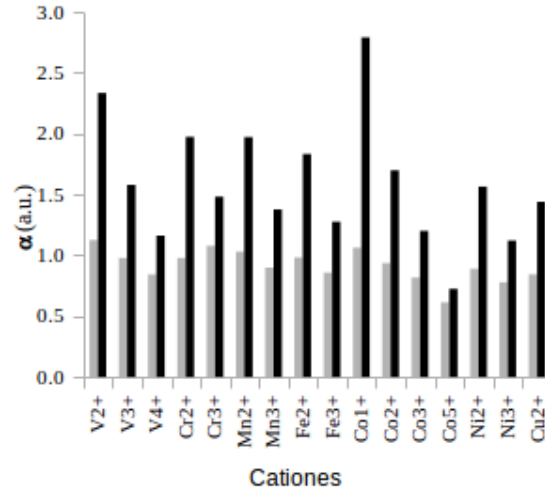
Como se puede ver, además de la esperada reducción de la polarizabilidad con la disminución del radio de confinamiento, también se puede ver un comportamiento relacionado con una disminución de la polarizabilidad cuando hay un aumento en la carga de cationes del mismo tipo de átomo, esta situación se conserva en condiciones de confinamiento ex-



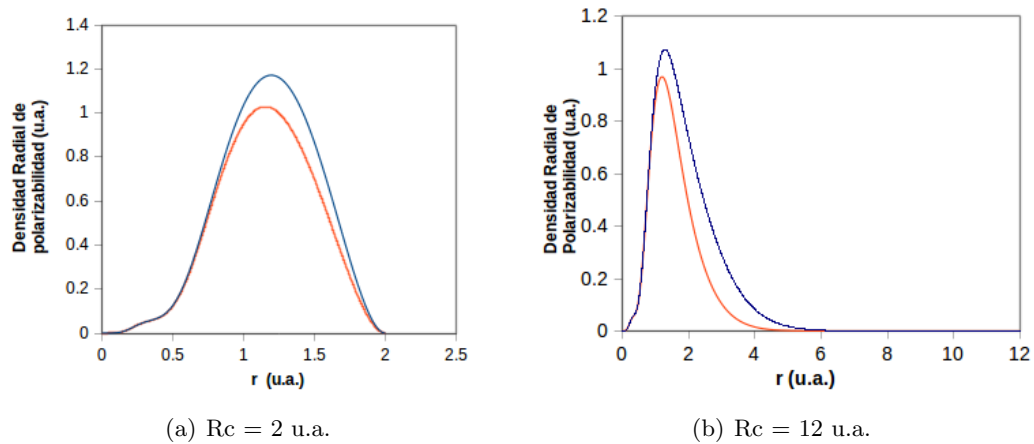
**Figura 3.4:** Energía Total como función del radio de confinamiento,  $R_c$  para el ión  $Mn^{2+}$  en las configuraciones electrónicas  $[Ar]3d^5$  (línea azul),  $[Ar]3d^44s^1$  (línea roja),  $[Ar]3d^34s^2$  (línea verde). Obtenidos con el funcional de intercambio Becke88.

tremo ( $R_c = 2$ ). También de esta figura se puede ver que el  $Co^{1+}$  es el catión que tiene los cambios más grandes inducidos al pasar del catión libre ( $R_c = 12$ ) a un confinamiento extremo ( $R_c = 2$ ); mientras que como se esperaba, el  $Co^{5+}$  al ser el ión con la mayor carga es el que presenta el menor cambio en esta misma situación. Por otro lado, se observa que el comportamiento de  $Cr^{3+}$  induce una inversión de los valores relativos para  $Cr^{3+}$  y  $V^{3+}$  en condiciones de confinamiento en comparación con los valores para el átomo de libre.

Además de ver como se comporta la densidad electrónica en función del radio de confinamiento  $R_c$  (ec. 3.2), también podemos ver como varía la densidad electrónica en función de la distancia de un punto a otro (ec. 3.3), por ello, utilizamos como ejemplo los cationes  $Mn^{2+}$  y  $Mn^{3+}$  para mostrar la densidad radial de polarizabilidad la cual es una cantidad que depende de  $r$  y nos indica como es la deformación de la densidad electrónica en el espacio como se muestra en la figura 3.6 para dos radios de confinamiento. De esta figura se puede ver que los valores máximos están cercanos al núcleo y éstos son mayores para el catión con la menor carga; este comportamiento también se observa cuando se analiza la polarizabilidad y se conserva para todos los cationes que estudiamos.



**Figura 3.5:** Polarizabilidad  $\alpha$  como función de los cationes, para dos radios de confinamiento  $R_c = 2$  y  $R_c = 12$  obtenidos con el funcional de intercambio Becke88. Ambas cantidades están en unidades atómicas (u.a.). Las barras negras corresponden a  $R_c = 12$  u.a. y las barras grises a  $R_c = 2$  u.a.

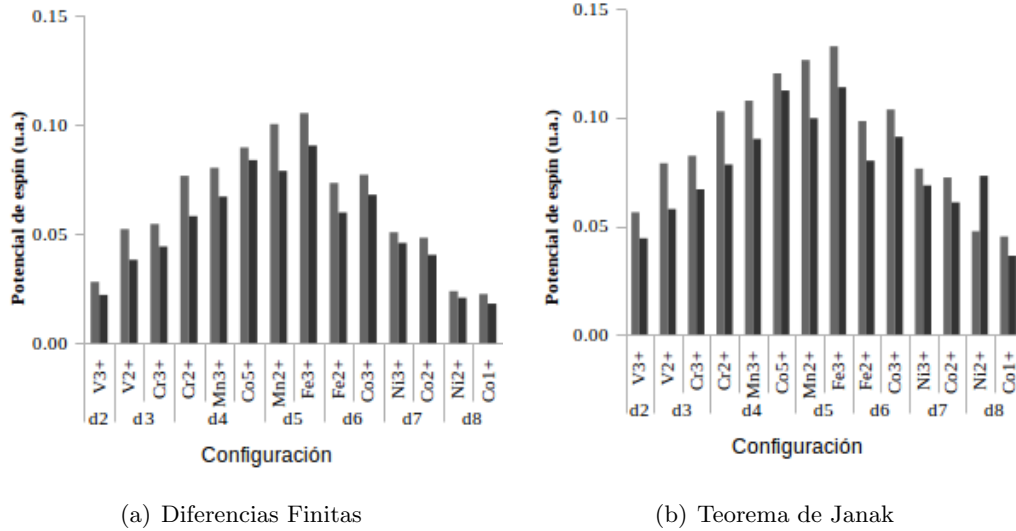


**Figura 3.6:** Densidad radial de polarizabilidad  $\alpha(\vec{r})$  como función de la distancia al núcleo ( $r$ ) para el ión de Mn (línea azul  $\text{Mn}^{2+}$ , línea roja  $\text{Mn}^{3+}$ ) para dos radios de confinamientos  $R_c = 2$  y  $R_c = 12$ . Ambas cantidades están en u.a.

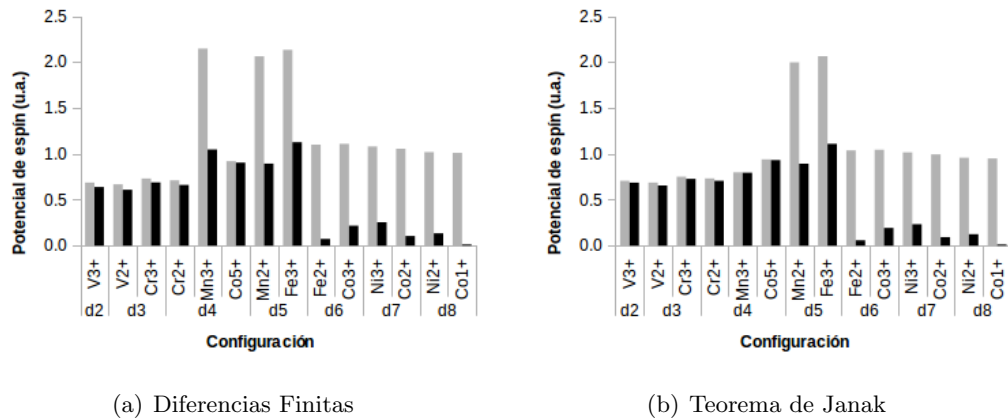
Las ecuaciones 3.6 y 3.8 proporcionan dos enfoques para estimar el potencial químico de espín en la dirección de las pequeñas multiplicidades. Por un lado, la ecuación 3.6 permite

calcular el potencial de espín con valores propios obtenidos de un cálculo de Kohn-Sham, en el estado de referencia. El potencial de espín en la dirección de disminuir multiplicidades ( $\mu_s^-$ ), es proporcional a la energía de apareamiento estimada como una diferencia de energía entre el sistema con la multiplicidad del estado fundamental y el sistema con un espín apareado ( $\Delta N_s$ ). En consecuencia, en la figura 3.7, se presenta una comparación del potencial de espín estimado por diferencias finitas y mediante el teorema de Janak, e indica que ambos procedimientos de evaluación dan una estimación del potencial de espín cuyo comportamiento es cualitativamente el mismo, es decir, aumenta de  $d^2$  a  $d^5$  y disminuye de  $d^5$  a  $d^8$  independientemente de si los iones están libres o confinados; la condición de confinamiento siempre aumenta el potencial de espín. Con el fin de ver las diferencias asociadas al confinamiento, se muestran los resultados para los iones libres ( $R_c = 12$ ) y bajo confinamiento extremo ( $R_c = 2$ ). En la mayoría de los casos, el potencial de espín presenta los valores más grandes bajo el máximo confinamiento, excepto para el catión  $\text{Ni}^{2+}$  donde el potencial de espín se evaluó usando valores propios.

Como una aproximación a primer orden, el potencial de espín en la dirección de aumentar la multiplicidad,  $\mu_s^+$ , está relacionado con la energía de excitación. Para evaluar los cambios en la energía en el proceso de desaparecer electrones las ecuaciones 3.5 y 3.7 fueron utilizadas. En la figura 3.8 se muestra el comportamiento del potencial de espín, estimado por aproximación de diferencias finitas y el teorema de Janak. Los resultados muestran el comportamiento de los iones libre  $R_c = 12$  y confinados  $R_c = 2$ . De la figura se puede ver que en las configuraciones  $d^2$  a  $d^4$  no hay diferencias significativas entre los valores obtenidos por diferencias finitas en comparación con los obtenidos usando el teorema de Janak, para los iones libres y confinados. La única excepción la presenta el ion  $\text{Mn}^{3+}$  donde el potencial de espín se evaluó por diferencias finitas. En el caso de las configuraciones  $d^6$  a  $d^8$  los iones libres muestran los valores más pequeños del potencial de espín. Además se puede ver que el ión con la menor carga ( $\text{Co}^{1+}$ ) es el que presenta el menor potencial de espín.



**Figura 3.7:** El negativo del potencial de espín en dirección de disminución de multiplicidad,  $(-\mu_s^-)$ , como función de la configuración  $d^n$  calculado con el funcional de intercambio Becke88 para dos radios de confinamientos,  $R_c = 2$  (barras grises) y  $R_c = 12$  (barras negras). Todas las cantidades están en u.a.



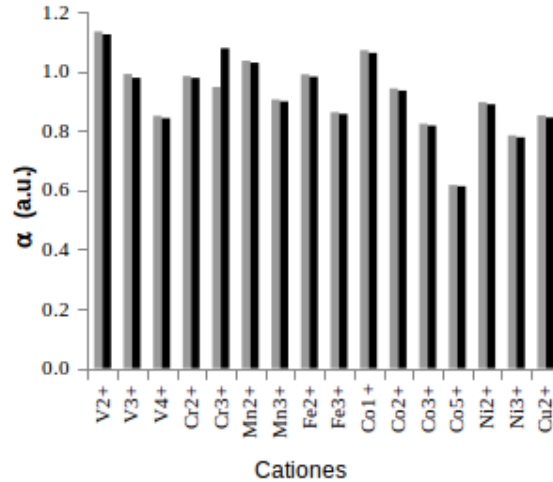
**Figura 3.8:** Potencial de espín en dirección de aumento de multiplicidad,  $(\mu_s^+)$ , como función de la configuración  $d^n$  calculado con el funcional de intercambio Becke88 para dos radios de confinamientos,  $R_c = 2$  (barras grises) y  $R_c = 12$  (barras negras). Todas las cantidades están en unidades atómicas.



Los iones con configuraciones electrónicas  $d^5$  muestran un comportamiento particular, ya que cuando se encuentran como átomos libres no muestran un cambio significativo respecto de las configuraciones  $d^2$  a  $d^4$ , pero al estar bajo condiciones de confinamiento extremo se aprecia una diferencia grande en comparación con estas mismas configuraciones. El comportamiento mostrado en la figura 3.8 puede estar asociado con el hecho de que en las configuraciones electrónicas  $d^2$  a  $d^4$  las transiciones electrónicas, aumenta el número de electrones en la capa de valencia  $nd$  y disminuye en la capa  $(n-1)p$ . Para el caso de las configuraciones  $d^6$  a  $d^8$  las transiciones electrónicas para aumentar la multiplicidad, incrementan el número de electrones en la capa de valencia  $ns$  y disminuye en la capa  $(n-1)d$ .

Con la finalidad de mostrar si el término de la energía de correlación dado por el funcional de intercambio y correlación BLYP es importante en las cantidades evaluadas en este trabajo, se realizaron comparaciones de resultados obtenidos con el funcional únicamente de intercambio (Becke88) y el funcional de intercambio y correlación (BLYP). En la figura 3.9 se muestra una comparación de la polarizabilidad para el caso de confinamiento extremo  $R_c = 2$ . En esta figura las barras negras fueron obtenidas con el funcional de intercambio Becke88 y las barras grises con el funcional de intercambio y correlación BLYP. El comportamiento de esta propiedad es similar al obtenido para el caso de los iones libres. Es claro que el impacto de incluir la contribución de la energía de correlación del funcional de intercambio y correlación es pequeña en la evaluación de las polarizabilidades con excepción del catión  $\text{Cr}^{3+}$  en el cual, incluir esta pequeña parte de la energía total induce una importante reducción en la polarizabilidad incluso para el caso del ion libre.

La figura 3.10 muestra el negativo del potencial de espín  $-\mu_s^-$  en función del tipo de catión. Los resultados mostrados representan los potenciales de espín obtenidos por una aproximación por diferencias finitas para los funcionales Becke88 y BLYP. Esta figura muestra los resultados que se obtuvieron sólo bajo confinamiento extremo ( $R_c = 2$ ). Es

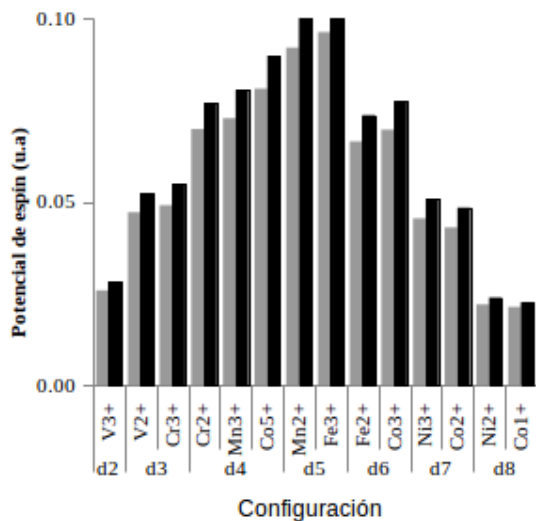


**Figura 3.9:** Polarizabilidad  $\alpha$  como función de los cationes, bajo condiciones de confinamiento ( $R_c = 12$  u.a.) para el funcional de intercambio Becke88 (barras negras) y el funcional de intercambio y correlación BLYP (barras grises). Todas las cantidades están en unidades atómicas (u.a.)

evidente que la contribución del término de correlación conduce a valores más pequeños para esta cantidad que el funcional de intercambio Becke88, sin embargo, la tendencia del potencial de espín  $\mu_s^-$  es la misma que la del funcional sin el término de correlación.

La figura 3.11 muestra los resultados obtenidos para el potencial de espín evaluados con la ecuación 3.5 para los funcionales Becke88 y BLYP. Esta figura muestra sólo los resultados que se obtuvieron para los cationes bajo confinamiento extremo  $R_c = 2$ . Es evidente que para la mayoría de los casos el término de correlación incluido a través del funcional de intercambio y correlación BLYP, no muestra una disminución significativa en los valores del potencial de espín, excepto para el caso del  $\text{Co}^{3+}$ . En general, la tendencia de los valores del potencial de espín  $\mu_s^+$  es la misma que la del funcional del intercambio Becke88.

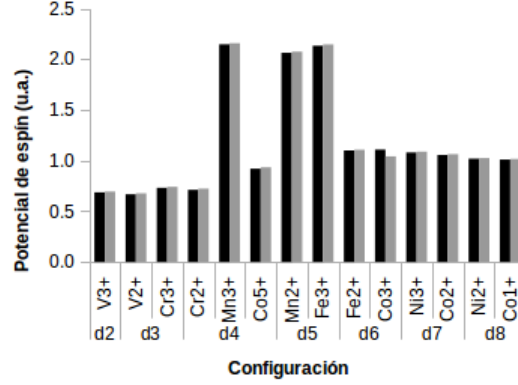
Como hemos mencionado anteriormente, la energía de apareamiento tiene una relación directa con el potencial químico de espín, como se muestra en la figura 3.12. El comportamiento lineal se conserva en condiciones de confinamiento extremo. Es bien sabido que



**Figura 3.10:** Negativo del potencial de espín  $-\mu_s^-$  obtenidos con el funcional de intercambio Becke88 (barras negras) y el funcional de intercambio y correlación BLYP (barras grises) evaluadas por aproximación de diferencias finitas. Todas las cantidades están en u.a.

el error de autointeracción tiene un impacto importante sobre las energías orbitales.<sup>72</sup> Sin embargo, para átomos de muchos electrones, no hay reportes relacionados con el impacto de la corrección a la autointeracción sobre las energías orbitales de átomos confinados. Aunque hay evidencia de que el orbital atómico más alto ocupado no está bien descrito para átomos confinados usando potenciales de intercambio y correlación comunes.<sup>76</sup> Además, hay un reporte donde es evidente para el átomo de helio confinado, que el error de autointeracción tiene un impacto importante en la energía total de Kohn-Sham.<sup>77</sup>

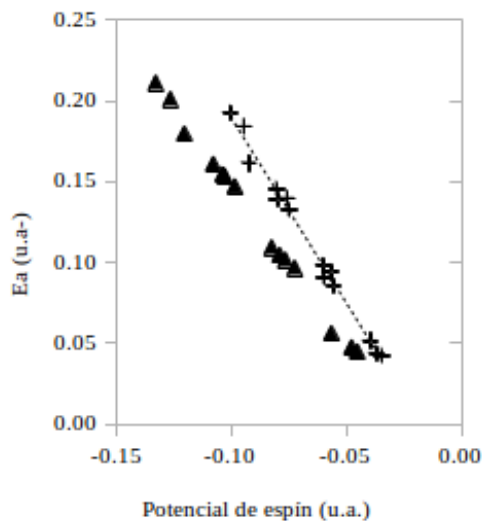
Algunas energías orbitales implicadas en la evaluación del potencial de espín de acuerdo a la ecuación 3.6 están reportadas en la tabla 3.2 para  $R_c = 2$  a.u. En este caso, se muestran los resultados de haber aplicado al funcional de intercambio y correlación BLYP la corrección de autointeracción (SIC) de Perdew y Zunger<sup>18</sup> y los resultados sin esta corrección (NO SIC). La diferencia entre SIC y NO SIC están incluidas en porcentaje en esta misma tabla. De esta tabla, podemos obtener un resultado importante: la corrección a la autointerac-



**Figura 3.11:** Potencial de espín en dirección de aumento de multiplicidad  $\mu_s^+$  obtenidos con el funcional de intercambio Becke88 (barras negras) y el funcional de intercambio y correlación BLYP (barras grises) evaluadas por aproximación de diferencias finitas. Todas las cantidades están en u.a.

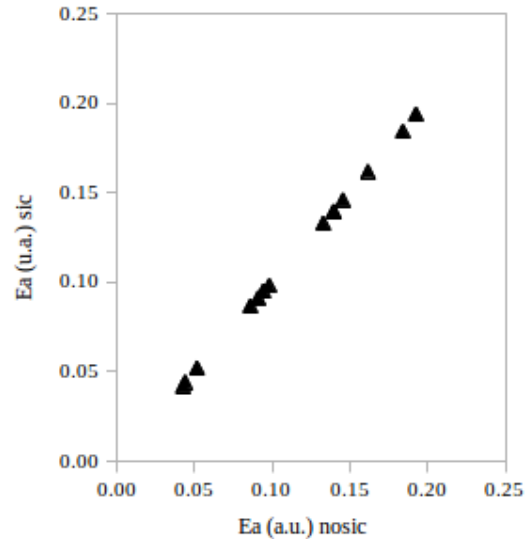
**Tabla 3.2:** Energías orbitales implicadas en la evaluación de  $\mu_s$ , por corrección de la autointeracción, no corregidas (NO SIC) y corregidas (SIC) a  $R_c = 2$  a.u.  $\Delta$ SIC representa la diferencia entre los resultados SIC y NO SIC en porcentaje con respecto a los valores de SIC. Todas las energías están en unidades atómicas.

Conf.	Cation	NO SIC			SIC			$\Delta$ SIC		
		$\epsilon_{H_\alpha}$	$\epsilon_{L_\beta}$	$\mu_s$	$\epsilon_{H_\alpha}$	$\epsilon_{L_\beta}$	$\mu_s$	$\epsilon_{H_\alpha}$	$\epsilon_{L_\beta}$	$\mu_s$
$R_c = 12,0$ a.u.										
$d^2$	V <sup>3+</sup>	-1.4119	-1.3599	-0.0260	-1.7274	-1.6736	-0.0269	18.3	18.7	3.3
$d^3$	V <sup>2+</sup>	-0.8313	-0.7636	-0.0339	-1.1144	-1.0665	-0.0240	25.4	28.4	41.3
$d^4$	Mn <sup>3+</sup>	-1.5902	-1.4675	-0.0614	-1.9443	-1.8095	-0.0674	18.2	18.9	9.0
$d^5$	Mn <sup>2+</sup>	-0.9574	-0.8250	-0.0662	-1.2779	-1.1548	-0.0616	25.1	28.6	7.6
$d^6$	Fe <sup>2+</sup>	-1.0135	-0.8985	-0.0575	-1.3509	-1.2146	-0.0682	25.0	26.0	15.6
$d^7$	Co <sup>2+</sup>	-1.0605	-0.9698	-0.0454	-1.4134	-1.3067	-0.0534	25.0	25.8	5.0
$d^8$	Ni <sup>2+</sup>	-1.1009	-1.0381	-0.0314	-1.4683	-1.3946	-0.0368	25.0	25.6	14.8
$R_c = 2,0$ a.u.										
$d^2$	V <sup>3+</sup>	-0.7670	-0.6878	-0.0396	-1.1429	-1.0045	-0.0692	32.9	31.5	42.8
$d^3$	V <sup>2+</sup>	0.0664	0.1798	-0.0567	-0.3013	-0.1335	-0.0839	122.0	234.7	32.4
$d^4$	Mn <sup>3+</sup>	-1.0329	-0.8725	-0.0802	-1.4406	-1.2212	-0.1097	28.3	28.6	26.9
$d^5$	Mn <sup>2+</sup>	-0.1678	0.0212	-0.0945	-0.5656	-0.3241	-0.1208	70.3	106.5	21.7
$d^6$	Fe <sup>2+</sup>	-0.2530	-0.1033	-0.0749	-0.6652	-0.5069	-0.0792	62.0	79.6	5.4
$d^7$	Co <sup>2+</sup>	-0.3317	-0.2203	-0.0557	-0.7578	-0.6396	-0.0591	56.2	65.6	5.8
$d^8$	Ni <sup>2+</sup>	-0.4048	-0.3310	-0.0369	-0.8445	-0.7658	-0.0394	52.1	56.8	6.2



**Figura 3.12:** Energías de apareamiento,  $E_a$ , obtenidas por diferencias finitas en función del potencial de espín  $\mu_s^-$  obtenido mediante el teorema de Janak para un  $R_c = 2$ . Con los coeficientes de correlación  $R^2=0.996$  y las ecuaciones  $f(x) = -1.92x - 0.05$  para el funcional Becke88 (triángulos) y  $R^2=0.991$  y  $f(x) = -2.28x - 0.04$  para el funcional BLYP (cruces).

ción (SIC) tiene un impacto importante sobre átomos libres y átomos bajo confinamiento. Por mucho tiempo, tales cambios en las energías orbitales han sido atribuidos a un mal comportamiento asintótico exhibido por muchos potenciales de intercambio y correlación, sin embargo, en este caso, no podemos decir que  $R_c = 2$  represente una región asintótica para todos los cationes de nuestro estudio. Claramente, este efecto es más pronunciado en la región de confinamiento extremo ( $R_c = 2$  u.a.) Por lo tanto las energías orbitales son corregidas por incluir la corrección a la autointeracción. Además evaluamos la energía de apareamiento con y sin corrección a la autointeracción. Estos resultados se muestran en la figura 3.13, donde es claro que hay un efecto nulo de la corrección a la autointeracción de las diferencias de energía total de los átomos confinados y no confinados.



**Figura 3.13:** Energía de apareamiento,  $E_a$ , evaluada por diferencias de la energía total usando el funcional de intercambio y correlación BLYP, corregido (SIC) y sin corregir (NO SIC) por la corrección de autointeracción. Un radio de confinamiento  $R_c = 2$ . Con un coeficiente de correlación  $r^2 = 1$  y la ecuación  $f(x) = 1x - 0$ . Todas las cantidades están en unidades atómicas.

### 3.4. Conclusiones.

Para átomos neutros los cruces en la energía orbital para una configuración electrónica dada indican que existe una configuración electrónica basal para cada radio de confinamiento de un mismo átomo, además de que el criterio de convergencia de la energía para los átomos neutros se alcanza en un  $R_c = 12$ . Por otro lado para los cationes esta convergencia se alcanza a un  $R_c = 6$  y no existen cruces de energías orbitales.

Para una configuración dada,  $d^n$ , la polarizabilidad disminuye con la carga y como era de esperar los cambios son menores para los iones confinados. Las excepciones son para los iones  $\text{Cr}^{2+}$  y  $\text{Cr}^{3+}$ , para este caso, en un espacio limitado, la polarizabilidad de  $\text{Cr}^{2+}$  es un poco más pequeña que la de  $\text{Cr}^{3+}$ . Entre el conjunto de iones que tratamos en este capítulo, se observa que la reducción más grande de polarizabilidad debido al confinamiento

la presentan  $\text{Co}^{1+}$  ( $d^8$ ) y  $\text{V}^{2+}$  ( $d^3$ ), mientras que la menor reducción la presenta  $\text{Co}^{5+}$ . En el caso de la densidad radial de polarizabilidad, esta no se modifica con el confinamiento, puesto que los valores máximos están siempre cercanos al núcleo. Además, añadir el término de energía de correlación a través del funcional de intercambio y correlación BLYP los valores de la polarizabilidad para los iones  $\text{Cr}^{2+}$  y  $\text{Cr}^{3+}$  no muestra inversión de valores de polarizabilidad en condiciones de confinamiento, por lo tanto estos iones presentan un comportamiento de acuerdo a la carga que poseen.

En el caso del potencial de espín siempre se exhibe un aumento en las configuraciones  $d^2$  a  $d^5$  y una disminución de  $d^5$  a  $d^8$  y el confinamiento siempre genera un aumento del potencial de espín. La tendencia con respecto a las configuraciones es totalmente compatible con el significado físico de potencial de espín, como una medida de la capacidad de un sistema para modificar su multiplicidad de donde se tiene que el valor más alto se alcanza para las capas semillenas y disminuye monótonamente hacia las configuraciones  $d^2$  ó  $d^8$ . Para una configuración dada,  $d^n$ , el potencial de espín (o energía de apareamiento) disminuye conforme disminuye la carga iónica.

Los resultados de las figuras 3.8 y 3.11 indican que el comportamiento cualitativo es el mismo cuando los cationes se encuentran libres y cuando están confinados. Además se puede ver que el  $\text{Mn}^{3+}$  calculado por diferencias finitas es el que exhibe un comportamiento distinto respecto del resultado obtenido usando valores propios. Este comportamiento se preserva cuando se incluye el término de correlación.

Debido a que los resultados obtenidos para el potencial de espín presentan una pequeña disminución bajo condiciones de confinamiento, se puede intuir que los cálculos obtenidos con el funcional de intercambio dan una tendencia correcta del potencial de espín para el conjunto de cationes que analizamos.

La conexión entre los procesos de localización deslocalización con errores de autointe-

racción<sup>18,24,78</sup> y el hecho de que el confinamiento puede incrementar la localización de los estados electrónicos, plantea la pregunta de cuál sería la influencia de los errores de corrección de la autointeracción (SIC) en la propiedad química que nos ocupa, en este caso la energía de apareamiento (o el potencial de espín). A partir de los resultados mostrados en la figura 3.13 se puede concluir que no hay una influencia significativa de la corrección a la autointeracción en las energías de apareamiento bajo condiciones de confinamiento para la muestra de cationes que nosotros analizamos.





## Capítulo 4

# Enzimas Superóxido Dismutasa de Fe y Mn.

En este capítulo se presenta un estudio sobre la reactividad química intrínseca de metaloenzimas que contienen hierro y manganeso. En la primera parte se dan los antecedentes y las razones de interés para el estudio de este tema. En la segunda sección se describen los detalles computacionales para obtener la estructura electrónica de los modelos creados a partir de las estructuras cristalográficas de las enzimas así como los parámetros de reactividad evaluados. En la tercera parte se presentan los resultados y discusión y en la cuarta y última sección las conclusiones obtenidas a partir de la discusión de éste tema.

### 4.1. Antecedentes.

La partición de un sistema cuántico y una región tratada con aproximaciones fue introducida hace mucho tiempo por Warshel y Levitt<sup>79</sup> y ha sido útil para tratar sistemas polipeptídicos grandes y complejos. Existen diferentes esquemas para definir la llamada

región clásica y tratar el borde entre ambas zonas<sup>80</sup>. Un punto clave en éstos métodos de cálculo es la definición del tamaño de la región cuántica con el fin de asegurar que contiene la información física y química importante implicada en el sistema de estudio y relevante para hacer frente a las interrogantes planteadas. En particular una clase de sistemas en los cuales estas aproximaciones son importantes son los sitios activos de las enzimas; en estos sitios catalíticos el medio ambiente que los rodea implica diferentes tipos de efectos; como son redes de puentes de hidrógeno, interacciones electrostáticas y de Van der Waals e interacciones covalentes tales como los de la primera y segunda esfera de coordinación.

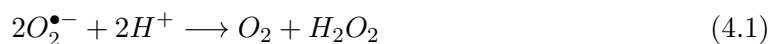
En este contexto, en el presente trabajo doctoral nos planteamos aportar algunos elementos que permitan acotar el tamaño del sitio activo que se debe tomar en cuenta en la región cuántica y definir la región “clásica”; y que den pie a asegurar una correcta descripción de la química de estos sitios, utilizando como guía el comportamiento de las propiedades electrónicas intrínsecas. Debido a que la Teoría de Funcionales de la Densidad ha sido útil para aumentar el tamaño de las regiones cuánticas en metaloenzimas y en consecuencia da descripciones detalladas de las esferas de coordinación en estos sistemas<sup>81-84</sup> y debido a que la reactividad química asociada con este tipo de sitios está relacionada con transferencias de carga y de espín, se considera natural usar parámetros de reactividad global y local basados en la Teoría de Funcionales de la Densidad para determinar el alcance de la influencia del medio sobre la reactividad de estos sistemas. Más allá de la determinación de los parámetros de reactividad útiles en éstas enzimas, esperamos que los criterios establecidos en este trabajo para delimitar la región cuántica, puedan ser transferidos a sistemas con esferas de coordinación similares.

#### 4.1.1. Enzimas Superóxido Dismutasas.

Las superóxido dismutasas (SODs)<sup>85</sup> son enzimas asociadas a muchos procesos biológicos<sup>86-89</sup>, los cuales incluyen el metabolismo aeróbico, la fosforilación oxidativa y la fotosínte-

sis, el estrés oxidativo además de la respuesta inmune de macrófagos y neutrófilos estimulados. El daño celular mediado por radicales superóxido está implicado en muchas patologías humanas, incluyendo daño cardiovascular, cáncer, envejecimiento, y algunas enfermedades neurodegenerativas. La regulación positiva de las SODs puede suprimir la expresión del fenotipo maligno del melanoma humano. Debido a esto son una importante defensa antioxidante en la mayoría de las células expuestas al oxígeno.

Estas enzimas catalizan la misma reacción, la dismutación del radical anión superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ) a dióxígeno y peróxido de hidrógeno, de acuerdo a la siguiente reacción:<sup>90</sup>



En la cual dos moléculas del radical superóxido son convertidas a oxígeno molecular y peróxido de hidrógeno.

Todos los sistemas aeróbicos tienen superóxido dismutasas (SODs) como parte de su sistema de protección. Existen al menos tres familias de SODs no relacionadas, que dependen de un cofactor metálico<sup>91-94</sup> la binuclear Cobre-Zinc superóxido dismutasa (Cu-ZnSOD), la mononuclear Níquel Superóxido dismutasa (NiSOD) y las de interés de este trabajo; las estructuralmente homólogas mononucleares hierro y manganeso superóxido dismutasas (FeSOD, MnSOD).

#### 4.1.2. Superóxido Dismutasas de hierro (FeSOD) y Manganeso (MnSOD)

Uno de los aspectos más interesantes de las superóxido dismutasas de hierro y manganeso (Fe- MnSOD) es que a pesar de ser estructuralmente homólogas poseen una alta especificidad metálica para su actividad catalítica, excepto en las enzimas sustituidas; Hierro sustituido en MnSOD [Mn(Fe)SOD] y Manganeso sustituido en FeSOD [Mn(Fe)SOD], debido a que éstas últimas tienen poca o ninguna actividad catalítica, se han realizado

estudios cristalográficos y algunas modificaciones en la secuencia amoniocídica sin obtener resultados que proporcionen pistas obvias sobre la selectividad del metal<sup>87,95,96</sup>. En la actualidad existe una amplia variedad de trabajos teóricos y experimentales en los que se proponen explicar las diferencias en el comportamiento de estas estas enzimas<sup>92,97-109</sup>.

La FeSOD<sup>110</sup> es una enzima que se ha encontrado en procariotas, en el citosol de plantas y en algunas células bacterianas. La MnSOD se encuentra como dímero o como tetrámero, con un solo átomo de Mn por subunidad, la forma dimérica se encuentra principalmente en bacterias, mientras que los organismos eucariontes presentan una estructura tetramérica<sup>111</sup>; por su parte la FeSOD siempre se encuentra en forma de dímero.

Las Fe y Mn superóxido dismutasas son enzimas compuestas por una cadena polipeptídica que se divide en dos dominios, un dominio de hélices alfa N-terminal el cual media la multimerización con la mayoría de las estructuras de las bacterias que forman dímeros y otro dominio alfa/beta C-terminal.<sup>110,112</sup>

En el sitio activo<sup>113</sup> de Fe- MnSOD el ion metálico está coordinado en una geometría trigonal bipiramidal por un residuo aspartato (Asp) y tres residuos de histidina<sup>114</sup> (His), como lo muestra la figura 4.1. Este se encuentra embebido en la enzima al final de un canal formado por el plegamiento de la enzima, se sabe que el superóxido llega al sitio activo a través de este canal de aminoácidos donde predominan los que tienen carga positiva, lo que atrae a la carga negativa del ion superóxido y lo induce a acercarse al sitio activo, restringiendo, a su vez, el acceso de aniones voluminosos. Fe- y MnSOD también pueden unirse a pequeños análogos de sustratos aniónicos, tales como azida ( $N_3^-$ ) y fluoruro ( $F^-$ ), que actúan como inhibidores competitivos de la actividad catalítica<sup>105,115-118</sup>. Estos iones pueden coordinarse directamente al centro metálico o pueden unirse a un sitio cercano a la primera esfera de coordinación<sup>107,117-122</sup>. Además se ha encontrado que la azida se coordina directamente con algunas especies de MnSOD, pero no se coordina a la enzima sustituida Mn(Fe)SOD<sup>123</sup> Se sabe también que existen 2 residuos que actúan como una especie de

residuos porteros que bloquean el paso de iones metálicos y aseguran la selectividad por los iones de Fe y Mn.

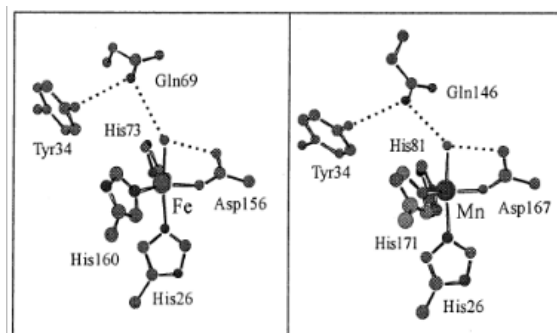
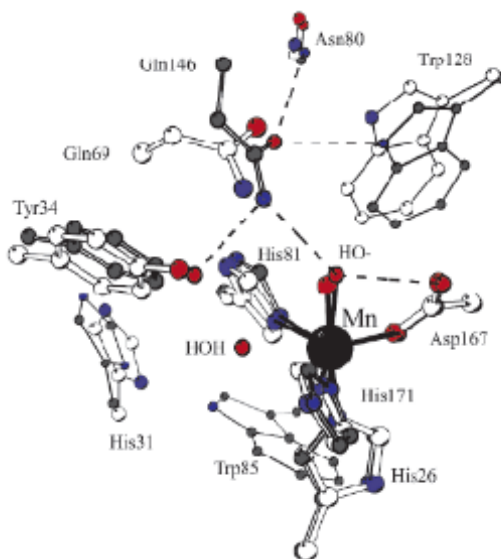


Figura 4.1: Modelos del sitio activo FeSOD<sup>3+</sup> y MnSOD<sup>3+</sup>.

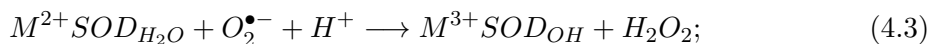
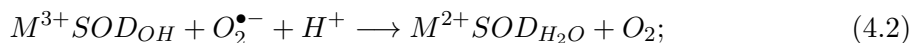
El sitio activo contiene una red de puentes de hidrógeno que se extienden desde el metal hasta una molécula del solvente y hacia residuos expuestos al solvente en la intercara entre subunidades<sup>106</sup> como puede verse en la figura 4.2; por lo tanto se propone que los puentes de hidrógeno están involucrados en la transferencia de protones durante la catálisis. Así mismo Yikilmaz y cols.<sup>124</sup> proponen que el puente de hidrógeno entre la glutamina y la molécula de solvente unida al sitio activo de FeSOD influencia fuertemente la actividad redox de esta enzima. Lèvêque<sup>125</sup> y Vance<sup>126,127</sup> proponen que las diferencias del potencial redox estándar de las enzimas nativas, las enzimas sustituidas y del anión superóxido permiten explicar la inactividad de las enzimas sustituidas. Otros estudios realizados sobre mutaciones revelan que cualquier modificación realizada en la red de puentes de hidrógeno afecta la actividad catalítica, así como la estabilidad de la enzima a pesar de que estas alteraciones causen un mínimo cambio estructural en el sitio activo.

Por otro lado, hay estudios teóricos que permiten elucidar el mecanismo de reacción de estas enzimas<sup>90,113,128,129</sup>. Se ha propuesto que el mecanismo de reacción corresponde a una reacción de dismutación ( $O_2^{\bullet-}$ ) de las Fe- MnSOD e involucra dos medias reacciones



**Figura 4.2:** Superposición de los sitios activos de MnSOD y Fe3+SOD. La estructura de Fe3+SOD pertenece a las líneas en color claro y la MnSOD las líneas en oscuro, sólo se han numerado los residuos para ésta última.

con el ión metálico M el cual corresponde a Mn o Fe, haciendo un ciclo entre los estados de oxidación  $M^{2+}$  y  $M^{3+}$  como se describe en las siguientes reacciones:<sup>106</sup>



donde el segundo protón es probable que sea transportado a través de un residuo de tirosina conservado que se encuentra aproximadamente a 6 Å del ión.

Se han propuesto tres diferentes mecanismos<sup>113</sup> por los cuales se lleva a cabo la reacción catalítica. Uno propone un mecanismo disociativo (5-6-5) donde el metal es penta coordinado en su estado de reposo y sexta-coordinado cuando el anión se ha unido. Un segundo mecanismo propone un desplazamiento asociativo en el cual la coordinación de la enzima en forma inactiva es de seis, mientras que en la forma activa es de cinco con el sustrato unido,

causando un desplazamiento de uno de los ligandos del metal. El tercer mecanismo sugiere que la reacción catalítica ocurre a través de un mecanismo de esfera exterior utilizando un sitio de unión al anión alterno al sitio activo.

Varios estudios experimentales y teóricos sobre las determinaciones estructurales, potenciales redox, valores de pKa, espectroscopía electrónica y los efectos de mutación sobre la actividad catalítica se han llevado a cabo en las formas reducidas y oxidadas de las enzimas FeSOD y MnSOD<sup>114–116,130–141</sup>.

Por ejemplo, Sines et al.<sup>142</sup> han estudiado la dependencia de la concentración iónica en la constante de velocidad de asociación del superóxido a la enzima. Por otra parte la Teoría de Funcionales de la Densidad ha sido utilizada para la racionalización de la estructura electrónica. Grove y cols.<sup>143</sup> han empleado métodos computacionales y espectroscópicos para caracterizar distintas especies de FeSOD que poseen una distinta esfera de coordinación y sus respectivos potenciales redox, mientras que Jackson y cols.<sup>108</sup> han combinado técnicas de espectroscopía, Teoría de Funcionales de la Densidad y cálculos semiempíricos para el estudio de Fe/MnSOD nativa, mutante y con sustitución del metal, han mostrado que la segunda esfera de coordinación se encuentra involucrada en la unión y selectividad del sustrato. También han estudiado las modificaciones del potencial de reducción en función del pH y la transferencia de protones en el sitio activo, otros como Han y cols.<sup>109</sup> han estudiado los cambios estructurales, el pKa, y los potenciales redox asociados a cada sitio activo. Por su parte Abreu y cols.<sup>144</sup> han utilizado la Teoría de Funcionales de la Densidad para demostrar que la segunda esfera de coordinación alrededor del centro metálico de la Fe/MnFeSOD juega un papel importante en la unión del radical superóxido. Rulísek y cols.<sup>90</sup> han estudiado los posibles intermediarios que participan en la reacción cíclica de la Fe/MnSOD, concentrándose en las energías de reacción, de desprotonación, la distancia de enlace entre el metal y los ligantes, y las similitudes y diferencias entre los dos iones metálicos. Así mismo compararon los distintos mecanismos de reacción y evaluaron las

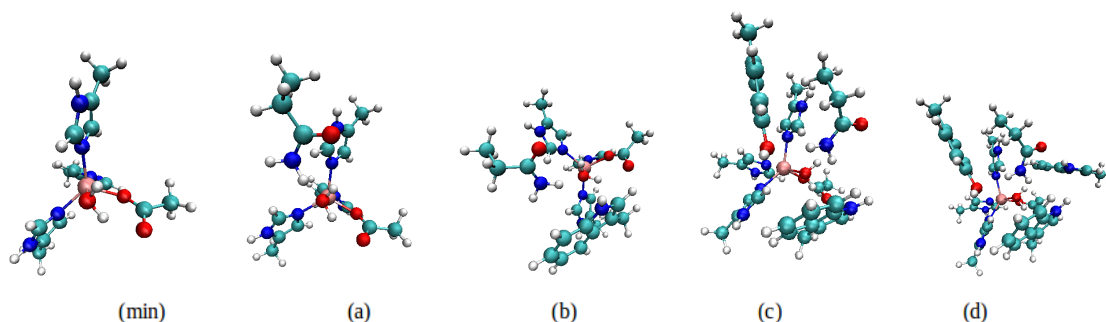


posibles vías para ambas reacciones. Por su parte Liu et al.<sup>104</sup> realizan un estudio teórico de las estructuras del sitio activo y analizan las energías de los orbitales moleculares, las cargas y los orbitales de frontera, mostrando que los iones metálicos son susceptibles a aceptar los electrones del radical superóxido. Finalmente, sabemos que para este tipo de sistemas de gran tamaño, el uso de la estructura electrónica se ve limitada. Por esta razón existen una gran variedad de modelos estructurales, con tamaños diversos, empleados en los estudios mencionados anteriormente. Además se ha visto que a pesar de que se tengan modelos estructuralmente idénticos a los sitios catalíticos de la enzima activa, estos no son necesariamente capaces de imitar la actividad catalítica<sup>123</sup>. Estos modelos también han echado mano de metodologías QM/MM<sup>103</sup> y dinámica molecular<sup>145</sup>. Aún los modelos más sencillos suelen contener varias decenas de átomos, lo cual hace que estos sistemas sean pocos accesibles a procedimientos de cálculo que incluyan de manera consistente los efectos de la correlación electrónica. Es en este contexto que surge la motivación para analizar la influencia de distintos tamaños del entorno que rodea el sitio activo de estos sistemas en la reactividad química de la misma.

## 4.2. Metodología.

Para el análisis del comportamiento de los parámetros de reactividad del sitio activo de las enzimas FeSOD y MnSOD, como función del entorno, el estudio se realizó en dos partes. En la primera parte se utilizaron 5 modelos de tamaño creciente (Fig. 4.3), los cuales se utilizaron para evaluar los parámetros de reactividad considerando todos los átomos y electrones del sistema. En la segunda se utilizó un esquema tipo QM/MM donde se estableció una región cuántica y se adicionaron potenciales electrostáticos efectivos de tamaño creciente relacionados con las cargas puntuales de los átomos fuera de la esfera cuántica. Para el estudio de los sistemas con todos los átomos, y electrones incluidos, los

modelos contienen el ion central, Fe o Mn y un número creciente de aminoácidos de acuerdo a las estructuras cristalográficas experimentales<sup>99,105,117</sup> obtenidas de la base de datos del protein data bank (PDB) para FeSOD y MnSOD. En total se generaron 5 modelos denominados “*min*”, “*a*”, “*b*”, “*c*”, y “*d*”; el modelo “*min*” se refiere al modelo más pequeño cuya estructura sólo contiene la primera esfera de coordinación del sitio activo de la enzima, el modelo “*a*” está construido tomando como base el modelo “*min*” y la adición de una parte del aminoácido Gln69, que se sabe es importante para la función de la enzima, el modelo “*b*” fue construido por la adición de un segmento del aminoácido Trp158 al modelo “*a*”; el modelo “*c*” está construido con un aminoácido más (Tyr34) que el modelo “*b*”, finalmente el modelo “*d*” es el más grande y está construido por la adición del aminoácido Trp122 al modelo “*c*”. La numeración de los aminoácidos coincide con la estructura PDB 1ISA. La construcción de los modelos se hizo cortando los aminoácidos en el enlace  $CH_2 - C$ ; después el grupo  $CH_2$  fue saturado con átomos de hidrógeno. Este procedimiento se realizó para el sitio activo tanto en el estado reducido el cual tiene una molécula de agua ( $H_2O$ ) como en el estado oxidado el cual tiene un grupo hidroxilo ( $OH^-$ ) ambos unidos covalentemente al centro metálico. Se sabe que estos son los ligandos que corresponden a cada estado de oxidación debido a que los potenciales redox simples de las reacciones  $M^{3+}(OH^-) + e^- \rightarrow M^{2+}(OH^-)$  y  $M^{3+}(H_2O) + e^- \rightarrow M^{2+}(H_2O)$  donde M corresponde al metal Fe o Mn, fueron calculados por Han y colaboradores<sup>109</sup> quienes encontraron que todos los valores de  $\Delta E_{redox}^0[M(OH^-)]$  son negativos y que los valores de  $\Delta E_{redox}^0[M(H_2O)]$  son positivos; esto indica que  $M^{2+}(OH^-)$  es menos estable que la forma  $M^{3+}(OH^-)$  y el signo positivo de  $\Delta E_{redox}^0[M(H_2O)]$  significa que  $M^{2+}(H_2O)$  es más estable que la forma  $M^{3+}(H_2O)$ , por lo tanto se concluye que los estados oxidados y reducidos para estas enzimas son  $M^{3+}(OH^-)SOD$  y  $M^{2+}(H_2O)SOD$  respectivamente. De esta forma con los modelos propuestos se pueden estudiar ambos estados de oxidación ya que de acuerdo a la bibliografía reportada la dismutación del radical anión superóxido a oxígeno



**Figura 4.3:** Modelos de tamaño creciente del sitio activo de la enzima  $Fe^{2+}SOD$ . (“*min*”) es el sistema más pequeño, y contiene sólo la primera esfera de coordinación; “*a*” es un modelo que incluye un aminoácido adicional (Gln69) que se ha determinado es importante para la funcionalidad de la enzima; “*b*” incluye al modelo *a* más el Trp158; “*c*” adiciona Tyr34 a “*b*”; y “*d*” adiciona Trp122 a “*c*”. Los átomos tienen el siguiente código de colores: átomo metálico (rosa), hidrógeno (blanco), nitrógeno (azul), carbono (verde), oxígeno (rojo). En todos los casos, se usaron hidrógenos para saturar los enlaces producidos por el corte de los aminoácidos.

molecular y peróxido de hidrógeno se lleva a cabo en dos reacciones de oxidoreducción. Para la regularización de las estructuras, las coordenadas de los átomos pesados (todos los átomos excepto hidrógenos) se mantuvieron fijas en la posición obtenida de la estructura experimental, y la posición de los átomos de hidrógeno de cada uno de los modelos se optimizaron utilizando el funcional OPBE<sup>12,146,147</sup>, este tipo de funcional de aproximación de gradiente generalizado (GGA) tiene un buen desempeño para describir los desdoblamientos de los estados de espín en complejos metálicos<sup>147</sup>. Los cálculos se realizaron con el código NWChem<sup>148</sup> utilizando el conjunto de base wachters+f<sup>149</sup> para el átomo metálico y una base de Pople triple-z con funciones difusas y de polarización 6-311++G\*\*<sup>150</sup> para el resto de los átomos. Las estructuras denominadas quimeras fueron construidas usando como punto de partida las estructuras optimizadas de FeSOD y se sustituyó el átomo de Fe por el del Mn para ambos casos ( $Mn^{2+}$ ,  $Mn^{3+}$ ); estas estructuras se identifican como Mn(Fe)SOD. Las multiplicidades de espín del estado basal para los sistemas de estudio son 5 para  $Fe^{2+}SOD$ , 6 para  $Fe^{3+}SOD$ , 6 para  $Mn^{2+}SOD$ , 5 para  $Mn^{3+}SOD$ , 6 para  $Mn(Fe)^{2+}SOD$  y 5 para  $Mn(Fe)^{3+}SOD$ . No se observaron cambios en la multiplicidad de

espín mientras se incrementó del tamaño del modelo.

Los índices de reactividad que se emplean son los potenciales químicos generalizados  $(\mu_{\alpha}^{-}, \mu_{\alpha}^{+}, \mu_{\beta}^{-}, \mu_{\beta}^{+})$  los cuales fueron evaluados mediante una aproximación por diferencias finitas como se muestra a continuación

$$\mu_{\sigma}^{-} \cong E(N_{\sigma}^0) - E(N_{\sigma}^0 - 1) \quad (4.4)$$

$$\mu_{\sigma}^{+} \cong E(N_{\sigma}^0 + 1) - E(N_{\sigma}^0) \quad (4.5)$$

donde  $\sigma = \alpha, \beta$  y  $N_{\sigma}^0$  es el número de electrones de espín  $\sigma$  en el estado de referencia. Se tomó en cuenta la distinción entre la derivada y la dirección para la extracción de electrones,  $\mu_{\sigma}^{-}$  y la aceptación de electrones  $\mu_{\sigma}^{+}$ . Las correspondientes expresiones usando el Teorema de Janak son:

$$\mu_{\sigma}^{-} \cong \varepsilon_H^{\sigma} \quad (4.6)$$

$$\mu_{\sigma}^{+} \cong \varepsilon_L^{\sigma} \quad (4.7)$$

En el cálculo de las funciones condensadas de Fukui generalizadas  $(f_{\alpha\alpha}^{-}, f_{\alpha\alpha}^{+}, f_{\beta\beta}^{-}, f_{\beta\beta}^{+})$  se usó la aproximación de diferencias finitas calculadas de la siguiente manera

$$f_{\sigma\sigma}^{-}(r) = \rho_{\sigma}(r, N_{\sigma}^0) - \rho_{\sigma}(r, N_{\sigma}^0 - 1) \quad (4.8)$$

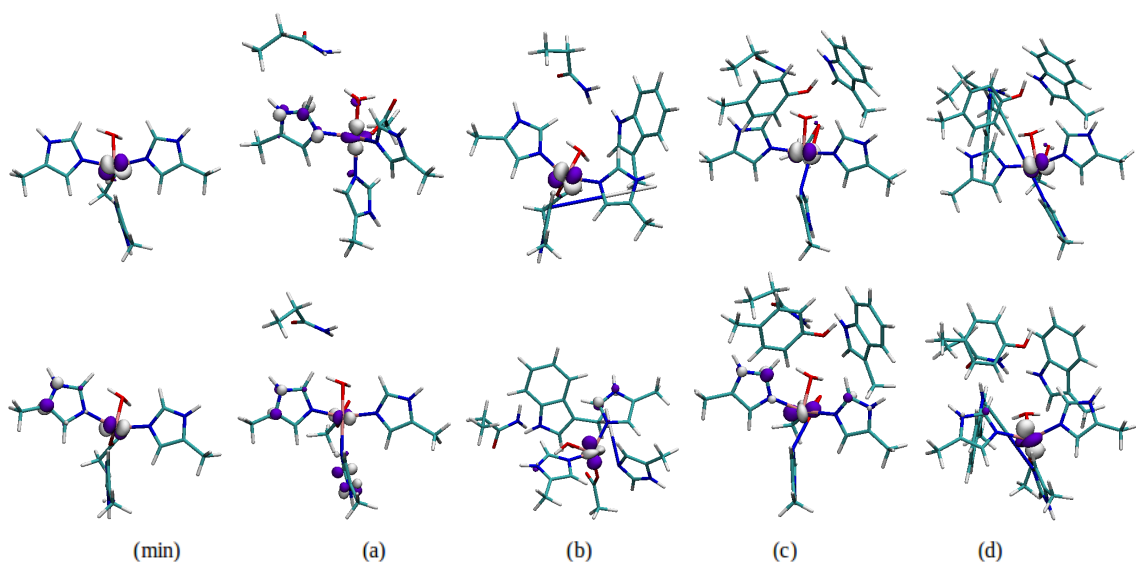
$$f_{\sigma\sigma}^{+} = \rho_{\sigma}(r, N_{\sigma}^0 + 1) - \rho_{\sigma}(r, N_{\sigma}^0) \quad (4.9)$$

las funciones de Fukui fueron evaluadas condensadas a átomos en el esquema de Yang y Mortier<sup>151</sup>, usando el análisis de población de Mulliken<sup>43</sup> con un conjunto de base en el cual el uso de las funciones difusas para los átomos no metálicos fueron canceladas y fue cambiada por el conjunto de base 6-311G\*\*<sup>150,153</sup>. La racionalización para el cambio de

base es que las funciones difusas son usadas para describir la superficie de energía potencial pero ocasionalmente dan un desbalance y a veces cargas de Mulliken no físicas<sup>152</sup>. Además, usando las mismas bases para el análisis de Mulliken, las funciones de Fukui fueron evaluadas usando el análisis de población átomos en moléculas de Bader<sup>154</sup>. Los resultados obtenidos de ambos análisis de población siguen la misma tendencia.

Con la finalidad de centrar la atención del análisis en las modificaciones inducidas en la reactividad del sitio activo y en particular del metal central, los orbitales HOMO y LUMO que se necesitan para evaluar los potenciales químicos fueron los asociados con la región del metal para cada modelo evaluado. Para reconocer los orbitales frontera se analizaron los coeficientes asociados a esos orbitales y se identificó cuáles eran los de mayor valor, con este procedimiento se aseguró estar en la región de importancia. Posteriormente la búsqueda de estos orbitales consistió en ubicar, por inspección visual, el orbital más alto ocupado asociado a la zona de sitio metálico e identificarlo como HOMO; similarmente el desocupado de más baja energía en esa zona se identificó como el LUMO; (Fig. 4.4) se verificó también que la disposición espacial de los orbitales frontera seleccionados fuera similar en los distintos modelos del sitio activo que se emplearon en esta tesis doctoral. La inspección visual descrita anteriormente se llevó a cabo para las dos simetrías de espín utilizando un isovalor de 0.09 en el programa VMD<sup>155</sup>.

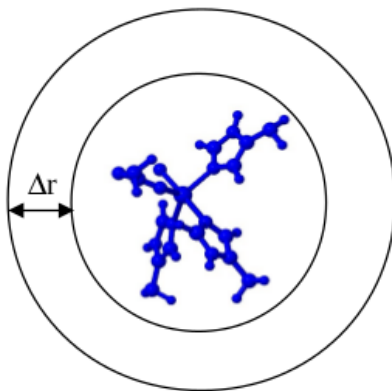
Con el fin de conocer la tendencia que siguen los parámetros de reactividad de interés dentro de este trabajo doctoral, en función de distintos tamaños de un potencial electrostático efectivo, se emplearon dos formas de incluir dicho potencial en los modelos de Fe<sup>2+</sup>SOD, Fe<sup>3+</sup>SOD y sus respectivas quimeras. El primer estudio se realizó utilizando las estructuras regularizadas “*min*”, “*a*”, “*b*”, “*c*” y “*d*” descritas anteriormente; se tomó el modelo “*min*” como punto de referencia y los modelos “*a*”, “*b*”, “*c*” y “*d*” se utilizaron para generar los potenciales electrostáticos efectivos a los cuales se sometió el modelo “*min*”. Para ello, los átomos que conforman el modelo “*min*” dentro de las estructuras “*a*”, “*b*”, “*c*” y “*d*” fueron



**Figura 4.4:** Comparación de los orbitales moleculares HOMO alfa con un fuerte carácter tipo d para  $\text{Fe}^{2+}\text{SOD}$  (arriba) y la quimera (ion  $\text{Fe}^{2+}$  sustituido en  $\text{Mn}^{2+}$ )  $\text{Mn}^{2+}(\text{Fe}^{2+})\text{SOD}$  (abajo) para los diferentes modelos de la Fig. 4.3; sólo se muestran los orbitales de espín alfa. Las regiones en blanco corresponden a las regiones positivas del orbital, y las moradas a las regiones negativas.

removidos, y a los átomos restantes se les hizo un ajuste de cargas mediante el método de Merz-Kollman<sup>156</sup>; finalmente se realizaron los cálculos de estructura electrónica del modelo “*min*” sujeto a los diversos potenciales electrostáticos efectivos y se evaluaron los índices de reactividad empleando las ecuaciones 4.4 a 4.9. Para el segundo estudio los potenciales electrostáticos efectivos se generaron de otra forma: a las estructuras experimentales obtenidas de los archivos pdb para las enzimas  $\text{Fe}^{2+}\text{SOD}$  (1ISA) y  $\text{Fe}^{3+}\text{SOD}$  (1isb) se le removieron todas la moléculas de hidratación y únicamente se conservaron la molécula de agua del estado reducido (1ISA) y el hidroxilo del estado oxidado (1isb) que se encuentran unidos covalentemente al sitio activo; a estas estructuras se les removió el sitio activo (modelo “*min*”) y con las estructuras restantes se generaron los potenciales electrostáticos efectivos como se describe a continuación. Se definieron cuatro distintos grosores,  $\Delta r$ , para definir casquetes esféricos que rodean al modelo “*min*”, como se esquematiza en la figura 4.5. Para

cada casquete se incluyeron todos los aminoácidos contenidos en él; los enlaces peptídicos que se deben cortar se saturaron con átomos de hidrógeno. Los hidrógenos agregados se regularizaron minimizando la energía respecto de sus coordenadas utilizando el conjunto de base 6-311G\*\*<sup>153</sup> y el funcional OPBE<sup>12,146,147</sup>. Finalmente se hizo un ajuste de cargas atómicas de cada casquete mediante el procedimiento de Merz-Kollman<sup>156</sup>. Los índices de reactividad se evaluaron utilizando el modelo “*min*” sujeto a los distintos potenciales electrostáticos efectivos utilizando la misma base y funcional ya mencionados mediante las ecuaciones 4.4 a 4.9. Los grosores y número de átomos contenidos de cada casquete fueron de, 11.22 u.a. y 72 átomos, 16.66 u.a. y 161 átomos, 18.40 u.a. y 194 átomos, 20.15 u.a. y 252 átomos. Es importante recalcar que en todos los casos se incluyeron las cargas puntuales en el potencial efectivo de Kohn-Sham durante el proceso autoconsistente.

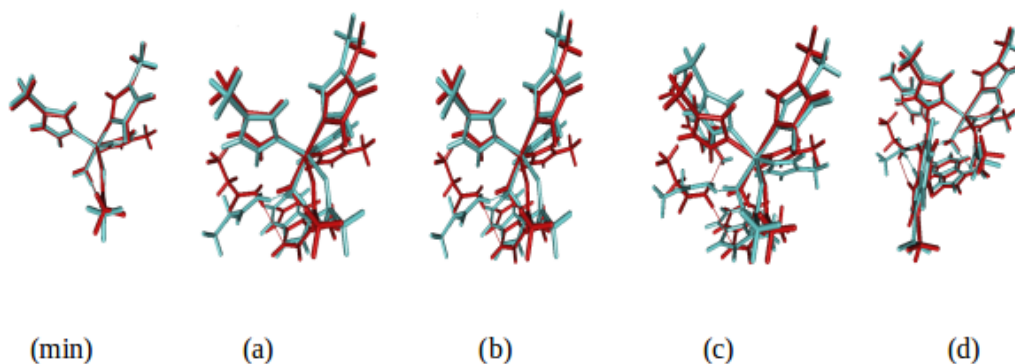


**Figura 4.5:** Esquema del potencial electrostático efectivo. La zona azul corresponde a la región cuántica;  $\Delta r$  indica los diferentes grosores de los potenciales electrostáticos efectivos que se modelaron como cargas puntuales obtenidas a través de un ajuste de cargas utilizando el método Merz-Kollman<sup>156</sup> que se variaron y tomaron los valores: 11.22 u.a., 16.66 u.a., 18.40 u.a., y 20.15 u.a.

### 4.3. Resultados Y Discusión.

#### 4.3.1. Modelos con todos los átomos y todos los electrones

Una comparación de las estructuras regularizadas de  $\text{Mn}^{2+}\text{SOD}$  y  $\text{Fe}^{2+}\text{SOD}$  se muestran en la Fig. 4.6 de la cual se observa una similitud estructural en ambos sitios activos como función del tamaño de los modelos. La primera esfera de coordinación es casi idéntica, y las diferencias en general son pequeñas incluso para los modelos más pequeños. La misma similitud se observa para el caso de las estructuras con cationes trivalentes.



**Figura 4.6:** Superposición de modelos generados por la optimización de los átomos de hidrógeno de los sitios activos de las enzimas  $\text{Fe}^{2+}\text{SOD}$  (código PDB 1ISA) en rojo y  $\text{Mn}^{2+}\text{SOD}$  (código PDB 1ix9) en azul. Durante la optimización, los átomos pesados fueron fijados; los detalles del nivel de teoría utilizado se encuentran en la sección de metodología.

Este comportamiento da soporte al análisis de las estructuras quiméricas en que el ión  $\text{Fe}^{N+}$  es sustituido por  $\text{Mn}^{N+}$  en la estructura  $\text{Fe}^{N+}\text{SOD}$  para  $N = 2, 3$ . El potencial químico en dirección de disminuir el número de electrones de ambas simetrías de espín para los modelos reducidos ( $N = 2$ ) se muestran en la tabla 4.1; esta tabla incluye las cantidades calculadas usando un esquema de diferencias finitas, Ec. 4.4, y las obtenidas por el Teorema de Janak, Ec. 4.6.

Como se indica en la tabla 4.1, la comparación de ambos conjuntos de datos, usando una regresión lineal similar a la realizada por Zielinski y colaboradores<sup>159</sup>, muestra que ambas



**Tabla 4.1: Potenciales químicos generalizados ( $\mu_\sigma$ ) para los sitios activos de las enzimas  $\text{Fe}^{2+}\text{SOD}$ ,  $\text{Mn}^{2+}\text{SOD}$  y  $\text{Mn}^{2+}(\text{Fe})\text{SOD}$  para los modelos de la Fig. 4.3 obtenidos por diferencias finitas y el Teorema de Janak (milihartrees.)**

	Diferencias Finitas			Janak		
	$\text{Fe}^{2+}\text{SOD}$	$\text{Mn}^{2+}\text{SOD}$	$\text{Mn}^{2+}(\text{Fe})\text{SOD}$	$\text{Fe}^{2+}\text{SOD}$	$\text{Mn}^{2+}\text{SOD}$	$\text{Mn}^{2+}(\text{Fe})\text{SOD}$
$\mu_\alpha^-$						
min	-348	-344	-334	-257	-243	-232
a	-336	-335	-324	-255	-245	-230
b	-313	-314	-304	-248	-240	-225
c	-307	-308	-299	-245	-241	-222
d	-290	-293	-283	-239	-236	-215
$\mu_\beta^-$						
min	-348	-344*	-360*	-211	-1872	-1867
a	-313	-356*	-347*	-210	-1875	-1865
b	-297	-330*	-322*	-205	-1871	-1860
c	-292	-319*	-313*	-202	-1871	-1857
d	-277	-299*	-294*	-195	-1868	-1850

Los valores con (\*) corresponde a los casos donde el proceso de transferencia de carga no involucra la región del metal. El coeficiente de correlación,  $R^2$ , de la regresión lineal para  $\mu_\alpha^-$  obtenida con ambos métodos para  $\text{Fe}^{2+}\text{SOD}$  es 0.98;  $\text{Mn}^{2+}\text{SOD}$  es 0.79; y  $\text{Mn}(\text{Fe})^{2+}\text{SOD}$  es 0.96. Para  $\mu_\beta^-$  en  $\text{Fe}^{2+}\text{SOD}$  es 0.77.

aproximaciones desarrollan el mismo comportamiento para los casos en que la aproximación por diferencias finitas asocia la transferencia de carga a la región metálica y para la mayoría de los casos los coeficientes de correlación son razonables.

La tendencia general indica una reducción en el valor absoluto conforme el modelo incrementa su tamaño; las variaciones con el tamaño son grandes en los valores obtenidos por el método de diferencias finitas comparados con los obtenidos por el Teorema de Janak. Es importante notar los casos en que el esquema de diferencias finitas implica procesos de transferencia de carga ocurridos en zonas diferentes a la zona del catión, en estos casos el orbital HOMO de espín beta en la región metálica es tipo p y con valores propios de energía muy profundos, la situación descrita también se presenta en la evaluación del potencial químico en dirección de ganar electrones.

Por lo tanto si nos centramos en la región metálica, es importante usar los valores

**Tabla 4.2: Potenciales químicos Generalizados para los modelos reducido y oxidado de los sitios activos de las enzimas FeSOD y MnSOD calculados usando el Teorema de Janak (milihartrees)**

	Reducido			Oxidado		
	Fe <sup>2+</sup> SOD	Mn <sup>2+</sup> SOD	Mn <sup>2+</sup> (Fe)SOD	Fe <sup>3+</sup> SOD	Mn <sup>3+</sup> SOD	Mn <sup>3+</sup> (Fe)SOD
$\mu_\alpha^\sigma$						
min	-257	-243	-232	-92(-129)	-236	-232
a	-255	-245	-230	-93(-130)	-244	-234
b	-248	-240	-225	-87(-126)	-235	-226
c	-245	-241	-222	-84(-124)	-231	-222
d	<b>-239</b>	<b>-236</b>	<b>-215</b>	<b>-81</b> (-122)	<b>-224</b>	<b>-219</b>
$\mu_\beta^\sigma$						
min	-211	-1872	-1867	-234	-191	-194
a	-210	-1875	-1865	-236	-196	-196
b	-205	-1871	-1860	-230	-187	-188
c	-202	-1871	-1857	-226	-183	-184
d	<b>-195</b>	<b>-1868</b>	<b>-1850</b>	<b>-218</b>	<b>-175</b>	<b>-181</b>

Los paréntesis indican los valores obtenidos usando los valores propios de los orbitales frontera del modelo sin restricción de estar asociado a la región del metal. Para los modelos en estado reducido, los potenciales químicos corresponden a la dirección de perder carga ( $\sigma$  es -), mientras los modelos oxidados son evaluados en la dirección de ganar electrones ( $\sigma$  es +). Ver el texto para los detalles del análisis de las tendencias observadas para los números en negrita.

obtenidos del análisis del Teorema de Janak, como se muestra en la tabla 4.2; en ésta se puede ver el potencial químico para los sitios enzimáticos reducido y oxidado como función del tamaño del modelo.

En el caso de las funciones generalizadas de Fukui condensadas, el enfoque en el sitio metálico no es ambiguo y el comportamiento de estas cantidades como función del tamaño del modelo se muestra en la tabla 4.3. El patrón es aproximadamente el mismo: los valores absolutos disminuyen como función del tamaño del modelo. En lo siguiente el uso de las cantidades de las tablas 4.2 y 4.3 se ejemplifica para el modelo más grande (“d”). Para comenzar, consideramos las siguientes ecuaciones

$$\Delta E \cong \left( \frac{\partial E}{\partial N_\alpha} \right)_{N_\beta, v(\vec{r})} \Delta N_\alpha \quad (4.10)$$

$$\Delta E \cong \left( \frac{\partial E}{\partial N_\beta} \right)_{N_\alpha, v(\vec{r})} \Delta N_\beta \quad (4.11)$$

con  $\Delta N_\sigma < 0$  y  $\mu_\sigma^- < 0$ ; bajo estas condiciones  $\Delta E > 0$  y los valores más bajos representan el menor costo energético cuando se realiza la transferencia de carga. Entonces entre los valores en negrita en los modelos reducidos en la tabla 4.2 el valor absoluto más bajo para el sistema  $\text{Fe}^{2+}\text{SOD}$  es 195 que corresponde a la pérdida de electrones beta e incrementa la multiplicidad del sitio activo. Para el sistema  $\text{Mn}^{2+}\text{SOD}$ , el valor absoluto más bajo es 236 indicando la preferencia por la pérdida de electrones alfa y la reducción de la multiplicidad; esta tendencia también se observa para la quimera  $\text{Mn}^{2+}(\text{Fe})\text{SOD}$ . En la dirección de ganar electrones,  $\Delta N_\sigma > 0$ ,  $\mu_\sigma^+ < 0$  y  $\Delta E < 0$ ; consecuentemente, el caso más estabilizante es el que tiene el valor absoluto más grande para el potencial químico. Mirando los números en negrita de los modelos oxidados, el número más grande para el sistema  $\text{Mn}^{3+}\text{SOD}$ , 224, implica que aceptar electrones de espín alfa e incrementar la multiplicidad de este sitio activo es el proceso preferido en la aceptación de electrones; lo mismo se espera para la quimera. En contraste, para el sistema  $\text{Fe}^{3+}\text{SOD}$  el valor más grande es 218 para aceptar electrones beta y disminuyendo la multiplicidad. Si nos referimos a los procesos de las reacciones definidas en las ecuaciones 4.2 y 4.3, en la primera reacción el ión metálico disminuye la multiplicidad para  $\text{Fe}^{3+}$  de 6 a 4 e incrementa para  $\text{Mn}^{3+}$  de 5 a 7, mientras que en la segunda reacción la región metálica incrementa su multiplicidad para el caso  $\text{Fe}^{2+}$  5 a 7 y disminuye para  $\text{Mn}^{2+}$  de 6 a 4. Los cambios en la multiplicidad indicadas anteriormente están basadas en un desdoblamiento del campo cristalino tipo bipirámide trigonal, el metal está rodeado por tres ligando ecuatoriales (dos histidinas y un aspartato) y dos ligandos axiales (una histidina y una molécula de solvente).

También hay que asumir un regimen de alto espín. Siguiendo esta línea, se pueden analizar los cambios en las densidades de espín de los sitios metálicos usando las ecuaciones 1.84 y 1.85: si se desprecian los términos cruzados en estas ecuaciones, las funciones condensa-

Tabla 4.3: Funciones Generalizadas de Fukui condensadas ( $\times 10^3$  u.a.) para los sitios metálicos en los modelos reducido y oxidado de las enzimas FeSOD y MnSOD y la quimera Mn(Fe)SOD

	Reducido				Oxidado							
	Fe <sup>2+</sup> SOD		Mn <sup>2+</sup> SOD		Mn <sup>2+</sup> (Fe)SOD		Fe <sup>3+</sup> SOD		Mn <sup>3+</sup> SOD		Mn <sup>3+</sup> (Fe)SOD	
	Mull.	Bader	Mull.	Bader	Mull.	Bader	Mull.	Bader	Mull.	Bader	Mull.	Bader
$f_{\alpha\alpha}^{\sigma}$												
min	310	312	315	315	335	336	20(160)	8	350	320	370	353
a	271	271	280	276	285	286	30(155)	8	365	342	375	361
b	170	177	195	194	210	213	20(135)	5	345	320	360	346
c	150	153	160	155	195	195	20(110)	5	340	318	340	326
d	<b>120</b>	116	<b>115</b>	115	<b>165</b>	167	<b>10(105)</b>	7	<b>320</b>	304	<b>340</b>	312
$f_{\beta\beta}^{\sigma}$												
min	280	336	15(215)	6	20(260)	9	320	342	555	537	520	511
a	260	305	10(190)	4	15(215)	8	315	345	580	556	515	512
b	210	258	5(145)	2	10(130)	6	315	341	600	578	555	527
c	210	238	0(120)	1	5(115)	6	300	325	580	555	495	479
d	<b>200</b>	218	<b>5(125)</b>	2	<b>10(115)</b>	6	<b>280</b>	304	<b>590</b>	569	<b>475</b>	469

Se muestran los valores de dos diferentes análisis de población, análisis de población de Mulliken (Mull.) y análisis de población Átomos en Moléculas (Bader). Las cantidades entre paréntesis indican los valores máximos obtenidos en sitios diferentes al metal. Para los modelos reducidos, las funciones de fukui condensadas corresponden a la dirección de pérdida de electrones ( $\sigma$  es -), mientras que para los modelos en estado oxidado fueron evaluados en dirección de ganar electrones ( $\sigma$  es +).

das de Fukui de la tabla 4.3 son suficientes para racionalizar los cambios en las densidades de espín del sitio metálico. Es decir, si los modelos reducidos pierden electrones, lo cual es la dirección natural de reaccionar, el sitio metálico del modelo Fe<sup>2+</sup>SOD prefiere donar electrones beta, mientras que el sitio en Mn<sup>2+</sup>SOD prefiere donar electrones de espín alfa. En contraste, los sistemas oxidados siempre prefieren aceptar electrones de simetría beta. Del lado experimental, se sabe que los potenciales redox estándar de Mn(Fe)SOD son mayores que en el sistema MnSOD, y que la enzima MnSOD es más eficiente que su homóloga FeSOD. Extrapolar los resultados teóricos a los experimentales es más difícil debido a la presencia de muchos efectos complejos que participan en los procesos redox implicados en las ecuaciones 4.2 y 4.3. Teniendo esto en mente, comentaremos acerca de las diferencias obtenidas en las propiedades calculadas en esta tesis. En cuanto a los potenciales químicos de la tabla 4.2 para el modelo “d”, se puede decir que para los sistemas de manganeso, el potencial químico del sistema Mn(Fe)SOD son siempre más grandes que los valores correspondientes del sistema MnSOD (En este análisis se toma en cuenta el número con su signo);

dentro de las limitaciones del uso de una propiedad intrínseca del sitio activo calculado con un modelo simple, parece que los resultados van de la mano con los experimentos. Para el caso de las diferencias de la reactividad en general entre los sistemas MnSOD y FeSOD, la situación es más complicada porque los valores experimentales son constantes cinéticas que son más difíciles de relacionar sólo con las propiedades de la reactividad intrínseca del sitio activo; entonces, es posible decir de los resultados obtenidos que para los modelos oxidados, los sistemas de  $\text{Mn}^{3+}\text{SOD}$  y  $\text{Mn}^{3+}(\text{Fe})\text{SOD}$  presentan mayor capacidad para ganar electrones que el sistema  $\text{Fe}^{3+}\text{SOD}$ , pero para los modelos reducidos es el sistema  $\text{Fe}^{2+}\text{SOD}$  el que tiene mayor capacidad para donar electrones. Como la reactividad global depende de las dos reacciones de las ecuaciones 4.2 y 4.3, nuestros resultados no son concluyentes en este sentido.

#### 4.3.2. Potencial Electroestático Efectivo

El comportamiento de los parámetros de reactividad de los sitios metálicos estudiados aquí, como función del tamaño del potencial electrostático efectivo, se presenta en dos partes; en ambos casos, la región cuántica corresponde al modelo “*min*”. Se presentan sólo los resultados obtenidos para los modelos oxidados, pero el patrón general es similar para los modelos reducidos. Tomamos sólo los resultados de  $\text{Fe}^{3+}\text{SOD}$  y la quimera  $\text{Mn}^{3+}(\text{Fe})\text{SOD}$  para ejemplificar los cambios inducidos.

La justificación para esta comparación es mantener el potencial electrostático efectivo constante y cambiar el ion central. En la primera parte, el potencial del tamaño electrostático efectivo crece como se muestra en la Fig. 4.3 y los resultados obtenidos para este caso se muestran en las tablas 4.4 y 4.5. Aquí hay un cambio abrupto de todas las cantidades después de que el primer potencial electrostático efectivo se encendió; por ejemplo,  $\mu_{\alpha}^{+}$  cambia de -92 en el modelo que tiene todos los átomos y todos los electrones a -357 para el  $\text{Fe}^{3+}\text{SOD}$  en el modelo **a** de cargas puntuales; después de este gran cambio el comporta-

**Tabla 4.4: Potenciales químicos generalizados como función de potenciales electrostáticos efectivos de tamaño creciente para los sitios activos de la enzima Fe<sup>3+</sup>SOD y la quimera Mn<sup>3+</sup>(Fe)SOD**

	Modelo/N <sup>a</sup>	Fe <sup>3+</sup> SOD	Mn <sup>3+</sup> (Fe)SOD
$\mu_{\alpha}^{+}$	a/12	-357 (-92) <sup>b</sup>	-297(-232) <sup>b</sup>
	b/31	-353	-293
	c/47	-354	-296
	d/66	-353	-295
$\mu_{\beta}^{+}$	b/31	-342	-254
	c/47	-347	-257
	d/66	-342	-255

<sup>a</sup> Indica cuántos átomos fueron incluidos como cargas puntuales durante el cálculo SCF. <sup>b</sup> Los números entre paréntesis son los valores de potencial químico para el modelo más pequeño aislado, “min”, de la tabla 4.2

miento es suave. El orden relativo se pierde después del cambio inicial para  $\mu_{\alpha}^{+}$ , mientras que para  $\mu_{\beta}^{+}$  se conserva.

Para las funciones generalizadas de Fukui,  $f_{\alpha\alpha}^{+}$ , también hay un fuerte cambio inicial; pero el orden relativo se mantiene, en el caso  $f_{\beta\beta}^{+}$  cambia el orden relativo cuando el primer potencial electrostático se aplica, para ésta cantidad, los valores de la estructura química se reducen sustancialmente y los valores máximos aparecen lejos del sitio metálico; pero estos nuevos valores máximos también tienen un comportamiento suave con el incremento del tamaño del potencial electrostático efectivo.

En la segunda parte del análisis, el procedimiento de crecimiento sigue un patrón de crecimiento esférico. Estos resultados se muestran en las tablas 4.6 y 4.7. Es interesante notar que ahora el cambio abrupto se reduce sustancialmente con respecto al modelo que contiene todos los átomos y todos los electrones, pero al aumentar el tamaño del potencial electrostático efectivo hay cambios en el orden relativo en algunas propiedades, tales como  $\mu_{\alpha}^{+}$  y  $f_{\beta\beta}^{+}$ . Una vez más, uno puede encontrar casos en los que el máximo de las funciones

**Tabla 4.5: Funciones generalizadas de Fukui condensadas ( $\times 10^3$ ) para los sitios metálicos de la enzima  $\text{Fe}^{3+}\text{SOD}$  y la quimera  $\text{Mn}^{3+}(\text{Fe})\text{SOD}$  como función de un potencial electrostático efectivo de tamaño creciente.**

Modelo/ $N^a$	$\text{Fe}^{3+}\text{SOD}$		$\text{Mn}^{3+}(\text{Fe})\text{SOD}$	
	Mull.	Bader	Mull.	Bader
$f_{\alpha\alpha}^\sigma$				
a/12	270(20) <sup>b</sup>	253	395(370) <sup>b</sup>	407
b/31	295	293	395	410
c/47	335	277	400	411
d/66	310	305	395	411
$f_{\beta\beta}^\sigma$				
a/12	360(320) <sup>b</sup>	407	10[245] <sup>c</sup> 520) <sup>b</sup>	9
b/31	335	361	15[245] <sup>c</sup>	11
c/47	290	383	10[225] <sup>c</sup>	9
d/66	325	352	1[280] <sup>c</sup>	14

Se presentan los valores para dos diferentes análisis de población, análisis de población de Mulliken (Mull.) y análisis de población Átomos en Moléculas (Bader). <sup>a</sup> Este número indica cuántos átomos fueron incluidos como cargas puntuales durante el cálculo SCF. <sup>b</sup> Los números entre paréntesis son los valores obtenidos para el modelo aislado más pequeño, “min”, de la tabla 4.3. <sup>c</sup> Las cantidades entre corchetes corresponden a los casos en los cuales el valor máximo de la función condensada de Fukui fue obtenida en un sitio distinto al metálico de la región cuántica.

generalizadas de Fukui condensadas son transferidas a sitios no metálicos; veamos por ejemplo  $f_{\beta\beta}^+$  para la quimera  $\text{Mn}^{3+}(\text{Fe})\text{SOD}$ .

También se puede decir que después de que el potencial efectivo llega a 17 u.a. los valores convergen. Si enfocamos la atención en el comportamiento general, en las Fig. 4.7 y 4.8 los resultados para los dos procedimientos de crecimiento se muestran en conjunto incluyendo el caso de los modelos que toman en cuenta todos los átomos y electrones. Para las dos propiedades globales y las dos locales el patrón local es similar.

Si se compara el procedimiento de crecimiento de todos los átomos y todos los electrones con el procedimiento no esférico, es evidente que el uso de un potencial electrostático que crece en forma no uniforme induce un cambio significativo en los potenciales quími-

**Tabla 4.6: Potenciales químicos generalizados de los sitios activos de la enzima Fe<sup>3+</sup>SOD y la quimera Mn<sup>3+</sup>(Fe)SOD como función de potencial electrostático efectivo esférico de tamaño creciente.**

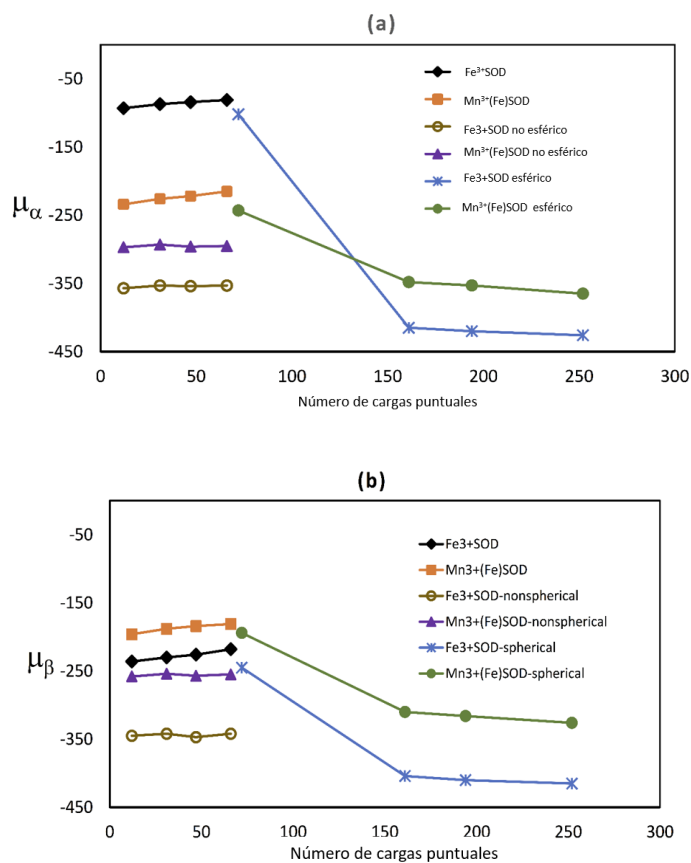
	$\Delta r(\text{u.a.})/N^a$	Fe <sup>3+</sup> SOD	Mn <sup>3+</sup> (Fe)SOD
$\mu_\alpha^+$	11.22/72	-102 (-92) <sup>b</sup>	-243 (-232) <sup>b</sup>
	16.66/161	-415	-348
	18.40/194	-420	-353
	20.15/252	-426	-365
$\mu_\beta^+$	11.22/72	-245 (-234) <sup>b</sup>	-2047 (-194) <sup>b</sup>
	16.66/161	-404	-310
	18.40/194	-410	-316
	20.15/252	-415	-326

<sup>a</sup>  $\Delta r$  corresponde al grosor del casquete esférico de los átomos como se muestra en la figura 4.5 y N indica cuántos átomos fueron incluidos como cargas puntuales durante el cálculo SCF. <sup>b</sup> Los números entre paréntesis son los valores obtenidos para el modelo aislado más pequeño, “min”, de la tabla 4.2.

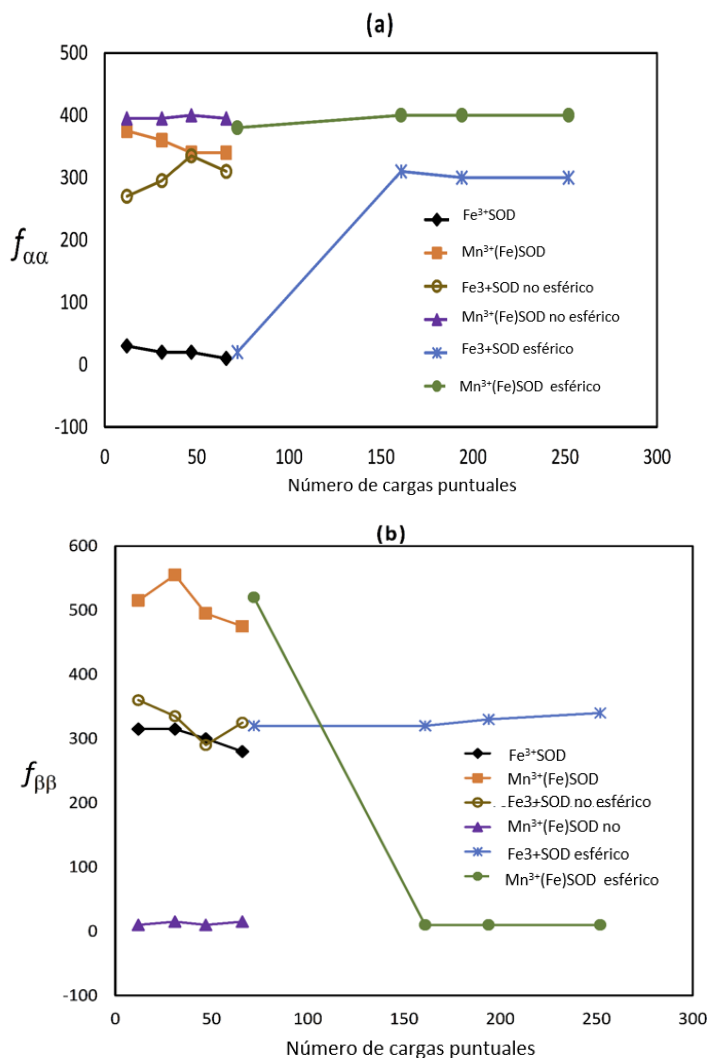
cos generalizados y las funciones condensadas de Fukui; después de este cambio inicial, el comportamiento es suave y similar al patrón de todos los átomos y todos los electrones.

En contraste al procedimiento de crecimiento esférico definido en la fig 4.5, da valores cercanos al modelo de todos los átomos y todos los electrones para un número equivalente de átomos y cargas puntuales usando un casquete esférico de alrededor de 11 u.a. de grosor. Después de este grosor, los potenciales químicos generalizados y las funciones generalizadas de Fukui cambian fuertemente con el grosor del casquete de cargas puntuales, para la mayoría de los casos hasta un grosor de 17 u.a.; en este espesor, los valores se estabilizan indicando que el impacto del potencial efectivo no es importante en estas propiedades a partir de ese tamaño de casquete. También son claros los cambios en el orden relativo para  $\mu_\alpha^+$  y  $f_{\beta\beta}^+$  para potenciales electrostáticos efectivos grandes.





**Figura 4.7:** Comportamiento de los potenciales químicos generalizados como función del tamaño del potencial electrostático efectivo. (a) corresponde a  $\mu_\alpha^+$  y (b) a  $\mu_\beta^+$ . Rombos negros y cuadrados naranjas corresponden a los modelos de todos los electrones de las enzimas Fe<sup>3+</sup>SOD y de la quimera Mn<sup>3+</sup>(Fe)SOD; los círculos cafés y triángulos morados al procedimiento de crecimiento de potencial no esférico y los asteriscos azules y círculos verdes a los valores obtenidos con el procedimiento del crecimiento esférico.



**Figura 4.8:** Comportamiento de las funciones generalizadas de Fukui condensadas como función del tamaño del potencial electrostático efectivo. (a) corresponde a  $f_{\alpha\alpha}^+$  y (b) a  $f_{\beta\beta}^+$ . Rombos negros y cuadrados naranjas corresponden a los modelos de todos los electrones de las enzimas Fe<sup>3+</sup>SOD y de la quimera Mn<sup>3+</sup>(Fe)SOD; los círculos cafés y triángulos morados al procedimiento de crecimiento de potencial no esférico y los asteriscos azules y círculos verdes a los valores obtenidos con el procedimiento del crecimiento esférico.

**Tabla 4.7: Funciones Generalizadas de Fukui condensadas ( $\times 10^3$ ) para los sitios metálicos de la enzima  $\text{Fe}^{3+}\text{SOD}$  y la quimera  $\text{Mn}^{3+}(\text{Fe})\text{SOD}$  como función de un potencial electrostático efectivo esférico de tamaño creciente.**

$\Delta r(\text{u.a.})/N^a$	$\text{Fe}^{3+}\text{SOD}$		$\text{Mn}^{3+}(\text{Fe})\text{SOD}$	
	Mull.	Bader	Mull.	Bader
$f_{\alpha\alpha}^\sigma$				
11.22/72	20 [160] <sup>c</sup>	20 <sup>b</sup>	8	380 (370) <sup>b</sup>
16.66/161	310		295	400
18.40/194	300		291	400
20.15/252	300		290	400
$f_{\beta\beta}^\sigma$				
11.22/72	320 (320) <sup>b</sup>	346	520 (520) <sup>b</sup>	512
16.66/161	320	366	10 [270] <sup>c</sup>	12
18.40/194	330	368	10 [260] <sup>c</sup>	12
20.15/252	340	374	10 [250] <sup>c</sup>	12

<sup>a</sup>  $\Delta r$  corresponde al grosor del casquete esférico de los átomos como se muestra en la figura 4.5 y N indica cuántos átomos fueron incluidos como cargas puntuales durante el cálculo SCF. <sup>b</sup> Los números entre paréntesis son los valores obtenidos para el modelo aislado más pequeño, “min”, de la tabla 4.3. <sup>c</sup> Las cantidades entre corchetes corresponden a los casos en los cuales el valor máximo de la función de Fukui condensada fue obtenido en un sitio no metálico de la región cuántica.

#### 4.4. Conclusiones

Abordar la reactividad del sitio activo en una enzima desde la perspectiva del uso de la Teoría de Funcionales de la Densidad utilizando las cantidades que caracterizan las propiedades intrínsecas de una pequeña parte de un sistema molecular grande no es tarea fácil. En este capítulo hemos visto que se debe tener cuidado para asignar las propiedades de reactividad que se evalúan por una aproximación de diferencias finitas, porque en algunos casos la reactividad química obtenida está presente en un sitio que no es relevante para el análisis. En estos sistemas complejos, el reactivo que interactúa con el sitio activo llega a la región de la molécula debido a un proceso de reconocimiento y a veces un procedimiento de transporte dentro de la macromolécula hasta el sitio activo. Una vez que la molécula llega a

ese punto la reactividad intrínseca de la molécula y del sitio activo se vuelven importantes. Esta es la razón de porqué se debe asegurar que se están evaluando correctamente las propiedades del sitio activo. A pesar de que se tienen los valores de las propiedades regionales como los potenciales químicos generalizados, los valores locales alrededor del sitio activo son los que detectan de una manera mejor las propiedades de transferencia de carga. Dentro de estas limitaciones, las posibilidades de conocer las capacidades intrínsecas de transferencia de carga, utilizando los potenciales químicos generalizados y las funciones de Fukui son factibles para sitios activos metálicos de capa abierta.

Establecer un modelo confiable del sitio activo de una enzima implica la identificación de la región clave que tiene toda la información física y química involucrada. Esta identificación tiene en cuenta información tal como las interacciones relevantes, covalentes y débiles y los aminoácidos que son cruciales para su función. El tamaño del modelo está determinado de acuerdo con esos preceptos. En el caso de las metaloenzimas, el sitio activo incluye al menos la primera esfera de coordinación y a veces la segunda esfera si se sabe que es relevante. En un tratamiento QM/MM, el resto de la macromolécula es tratado usando campos de fuerza y a veces una parte se incluye como un potencial electrostático efectivo que se integra en el potencial de Kohn-Sham como un término adicional. Nuestros hallazgos indican que este tipo de potencial electrostático debe crecer en forma esférica hasta una distancia de alrededor de 17 u.a. más allá de la primera esfera de coordinación; a esta distancia los parámetros de reactividad convergen como función del tamaño. El uso de un potencial electrostático efectivo que crece en una dirección en particular da lugar a fuertes cambios en la descripción de carga y de espín de la región metálica; este efecto podría cambiar el orden relativo cualitativo de los parámetros de reactividad usados en la comparación de sistemas.



## Conclusiones

Las conclusiones de esta tesis se pueden ubicar en dos partes: la primera corresponde al estudio de átomos confinados y la segunda al análisis de la reactividad química intrínseca de las enzimas estudiadas en un ambiente peptídico formado por la primera y la segunda esfera de coordinación del sitio activo y dentro de un potencial electrostático efectivo.

En esta tesis se evaluó el comportamiento de los cationes cuando se encuentran frente a un confinamiento esférico de paredes lisas e impenetrables y para los cuales se obtienen las siguientes conclusiones:

El confinamiento esférico nos permitió mostrar que todos los cationes estudiados alcanzan la convergencia de las propiedades evaluadas en un  $R_c = 6$  u.a. y que a diferencia de los átomos neutros, los cationes no presentan transiciones electrónicas en función del confinamiento; además encontramos que el confinamiento extremo no cambia la tendencia en el comportamiento de las propiedades analizadas. Además mostramos que el sentido físico del potencial químico de espín en dirección de disminuir multiplicidades se mantuvo en condiciones de confinamiento extremo. El funcional de intercambio y correlación BLYP no muestra una gran diferencia en los valores de potencial de espín reportados en referencia a los del funcional Becke88, que sólo incluye efectos de intercambio. La corrección a la autointeracción tiene un impacto importante sobre átomos libres y bajo confinamiento, sin embargo cuando se evaluó la energía de apareamiento con y sin corrección a la autointeracción se mostró que hay un efecto nulo sobre ésta. El hecho de que la energía de

apareamiento no cambie ante un confinamiento extremo, valida la racionalización que se hace del comportamiento de ambientes químicos de estos metales en condiciones de alta presión utilizando los resultados de la teoría del campo cristalino en ausencia de efectos de presión.

En relación con la segunda parte de conclusiones, los resultados presentados en esta tesis muestran la importancia del análisis de las propiedades de reactividad globales y locales para describir el comportamiento de metaloenzimas. De los resultados obtenidos podemos concluir que se debe establecer un modelo confiable del sitio activo con el fin de contener toda la información física y química relevante. La información que generan estos índices es útil en lo que respecta a la reactividad y selectividad en los sitios catalíticos estudiados. Respecto a las propiedades globales del análisis de los modelos que consideran todos los átomos y electrones presentados en el capítulo 4 los resultados muestran que existen cambios evidentes y significativos al utilizar el criterio de localidad. Los valores de potencial químico generalizado nos indican que la quimera es la enzima que presenta la mayor tendencia para realizar el proceso de reducción mostrado en la ecuación 4.3 utilizando electrones alfa, mientras que la enzima FeSOD realizará este mismo proceso con un menor costo energético utilizando electrones beta. Los resultados del análisis local sugieren que el sitio de mayor reactividad está sobre los iones metálicos de cada enzima en el caso de la rama alfa, mientras que para la rama beta, el sitio de mayor reactividad no corresponde al sitio metálico. También se obtiene que en el estado oxidado los valores más grandes de potencial químico los presenta la enzima MnSOD, lo que indica que esta enzima realizará de manera más eficiente el proceso de oxidación haciendo transferencia de electrones alfa, y la enzima FeSOD lo hará mediante transferencia de electrones beta. Así mismo, este análisis de localidad muestra que a excepción del átomo de Fe en la rama alfa, son los iones metálicos los que presentan los sitios más reactivos y por lo tanto la mayor tendencia a la aceptación de carga electrónica. A partir de la interpretación de los resultados obtenidos hemos encontrado

una concordancia con los resultados experimentales, que indican que la enzima de MnSOD es más reactiva que la enzima de FeSOD. Por otra parte, encontramos que de acuerdo con el modelo de potencial electrostático efectivo utilizado se obtienen diferencias abruptas en el comportamiento de las propiedades analizadas en esta tesis, lo cual sugiere que la construcción del potencial electrostático es muy importante para la determinación de los parámetros de reactividad.

Por lo tanto podemos concluir, que los cambios del entorno químico evaluado utilizando modelos que consideren todos los átomos y todos los electrones, así como aquellos en las que empleamos potenciales electrostáticos efectivos pueden ser estimados aplicando los índices de reactividad química empleados en esta tesis debido a los cambios que pudimos observar en la sección de resultados del capítulo 4.





## Perspectivas

La propuesta de distintas formas de ordenar los potenciales químicos planteada en la última sección del capítulo 1 de esta tesis establece diversas posibilidades que pueden probarse para casos específicos. Un caso que permite avanzar en este sentido corresponde a la reacción de dismutación del anión superóxido. Esta reacción comprendería la interacción de la especie reactiva y el sitio activo de la enzima y la del sitio activo y el peróxido de hidrógeno, debido a que estas especies químicas son las primordiales para que se lleve a cabo dicha reacción.

En el campo de investigación de los átomos confinados sería interesante aplicar los efectos del confinamiento a ambientes químicos de metales de transición en sólidos a altas presiones, debido a que hay información experimental abundante en este tema.

Dentro del estudio de las enzimas, un aspecto importante que hay que considerar se refiere a las mutaciones puntuales de aminoácidos, que experimentalmente se sabe provocan la inactividad de la enzima. Dichas mutaciones pueden realizarse utilizando los modelos que contienen todos los átomos y todos los electrones construidos en esta tesis, así mismo utilizar los parámetros de reactividad química aquí empleados para llegar a una explicación sobre la inactividad de la enzima al ser mutada.

Por otro lado, las interacciones por puentes de hidrógeno también se consideran una causa de la inactividad de las enzimas superóxido por lo cual sería interesante utilizar estos

índices de reactividad para determinar si presentan un efecto importante en la actividad de las enzimas.

La dismutación del anión superóxido a través de las enzimas superóxido dismutasas evita que se formen radicales superóxido que conducen a enfermedades degenerativas entre otras, es por eso, que otro punto interesante por analizar es ¿Cómo se lleva a cabo el reconocimiento enzima sustrato? a fin de determinar que tipo de interacciones pueden volver inactiva a la enzima y precisar si éstas son suficientes para que la enzima no pueda realizar la catálisis.

# Bibliografía

- [1] Parr, R. G.; Yang, W. *Density-Functional Theory of Atoms and Molecules* Oxford University, Nueva York, **1989**.
- [2] Hohenberg, P.; Kohn, W. *Phys. Rev. B* **1964**, *136*, 864-871.
- [3] Kohn, W.; Sham, L. J. *Phys. Rev. A* **1965**, *140*, 1133.
- [4] Perdew, J. P.; Schmidt, K.; *Density Functional Theory and Its Applications to Materials* Ed. Van Doren, V.E.; Van Alsenoy, K; Geerlings. P.; AIP, New York, **2001**, 1.
- [5] Kohn, W. *Rev. Mod. Phys.* **1999**, *71*, 1253.
- [6] Perdew J.P. *Phys. Rev. B* **1986**, *33*, 8822.
- [7] Perdew, J.P.; Wang, Y. *Phys. Rev. B* **1986**, *33*, 8800.
- [8] Becke, D. *Phys. Rev. A* **1988**, *38*, 3098-3100.
- [9] Lee, C.; Yang, W.; Parr, R. G. *Phys. Rev. B* **1988**, *37*, 785.
- [10] Gunnarsson, O.; Lundqvist, B. I. *Phys. Rev. B*. **1976**, *13*, 4274.
- [11] a) Langreth D.C; Perdew J.P. *Phys. Rev. B* **1980**, *21*, 5469. b) Langreth D.C; Perdew J.P. *Phys. Rev. B* **1983**, *28*, 1809.
- [12] Perdew, J.P.; Burke, K.; Ernzenhof, M.; *Phys. Rev. Lett.* **1996**, *77*, 3865-3868.
- [13] Perdew, J.P.; Burke, K.; Ernzenhof, M.; *Errata Phys. Rev. Lett.* **1997**, *78*, 1396.
- [14] Martín del Campo, J.; Gázquez, J. L.; Trickey, S. B.; Vela, A. *J. Chem. Phys.* **2012**, *136*, 104108.
- [15] Tao, J.; Perdew, J.P.; Staroverov, V. N.; Scuseria, G.E. *Phys. Rev. Lett.* **2003** *91*, 146401.
- [16] Becke, A. D. *J. Chem. Phys.* **1996**, *104*, 1040.

- [17] Szabo, A.; Ostlund, N. S. *Modern Quantum Chemistry: Introduction to Advanced Electronic Structure Theory*; Dover Publications, New York, 1996.
- [18] Perdew, J. P.; Zunger, A. *Phys. Rev. B* **1981**, *23*, 5048-5079.
- [19] Krieger, J. B.; Li, Y.; Iafrate, G. *J. Phys. Rev. A* **1992**, *45*, 101.
- [20] Krieger, J. B.; Li, Y.; Iafrate, G. *J. Phys. Rev. A* **1992**, *46*, 5453.
- [21] Krieger, J. B.; Li, Y.; Iafrate, G. *J. Phys. Rev. A* **1993**, *47*, 165.
- [22] Tong, X. M.; Chu, S. I. *Phys. Rev. A* **1997**, *55*, 3406.
- [23] Tong, X. M.; Chu, S. I. *Phys. Rev. A* **1998**, *57*, 855.
- [24] Garza, J.; Nichols, J. A.; Dixon, D. A. *J. Chem. Phys.* **2000**, *112*, 7880.
- [25] Garza, J.; Vargas, R.; Nichols, J. A.; Dixon, D. A. *J. Chem. Phys.* **2001**, *114*, 639.
- [26] Koopmans T. A. *Physica* **1933**, *1*, 104.
- [27] Janak, J.F. *Phys. Rev. B* **1978**, *18*, 7165.
- [28] Parr, R. G.; Donnelly, R. A.; Levy, M.; Palke, W. E. *Chem. Phys.* **1978**, *69*, 3801.
- [29] Parr, R. G.; Pearson, R. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 7512.
- [30] Pearson, R. G. *Chemical Hardness: Applications from Molecules to solids*; Wiley-VHC: Weinheim, Alemania, 1997.
- [31] Parr, R. G.; Szentpály, L. V.; Luis, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 1922
- [32] Parr, R. G.; Yang, W. *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 4049.
- [33] Ayers, P. W.; Levy, M. *Theor. Chem. Acc.* **2000**, *103*, 353.
- [34] Cedillo, A.; Contreras, R. *J. Mex. Chem. Soc.* **2012**, *56*, 257.
- [35] Yang, W.; Parr, R. G. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **1985**, *82*, 6723.
- [36] Li, Y.; Evans, J. N. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 7756.
- [37] Contreras, R.; Domingo, L. R.; Andrés, J.; Pérez, P.; Tapia, O. *J. Phys. Chem.* **1999**, *103*, 1367.
- [38] Pérez, P.; Simón-Manso, Y.; Aizman, A.; Fuentealba, P.; Contreras, R. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 4756.
- [39] Chatarraj, P.K. Editor *Chemical Reactivity Theory: A Density Functional View*. CRC Press. Boca Raton, **2009**

- [40] Galván, M.; Vela, A.; Gázquez, J.L. *J. Phys. Chem.* **1988**, *92*, 6470.
- [41] Garza, J.; Vargas, R.; Cedillo, A.; Galván, M.; Chattaraj, P.K. *Theor. Chem. Acc.* **2006**, *115*, 257.
- [42] Yang, W.; Mortier, W. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 5708.
- [43] Mulliken, R.S. *J. Chem. Phys.* **1955**, *23*, 1841.
- [44] Borgoo, A. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2008**, *10*, 1406.
- [45] Connerade, J.P. *J. Alloys Relat. Compounds* **1997**, *255*, 79.
- [46] Connerade, J.P.; Dolmatov, V.K.; Lakshmi, P.A.; Manson, S.T. *J. Phys. B: At. Mol. Opt. Phys.* **1999**, *32*, L239.
- [47] Connerade, J.P.; Dolmatov, V.K.; Manson, S.T. *J. Phys. B: At. Mol. Opt. Phys.* **1999**, *32*, L395.
- [48] Lawrence, J.M.; Riseborough, P.S.; Parks, R.D. *Rep. Prog. Phys.* **1981**, *44*, 1.
- [49] Guerra, D.; Vargas, R.; Fuentealba, P.; Garza, J. *Advances in Quantum Chemistry* **2009**, *58*, 1.
- [50] Zicovich-Wilson, C.; Planelles, J. H.; Jaskólski, W. *Int. J. Quantum Chem.* **1994**, *50*, 429.
- [51] Jaskólski, W. *Phys. Rep.* **1996**, *271*, 1.
- [52] Boeyens, J.C.A. *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* **1994**, *90*, 3377.
- [53] Connerade, J.P.; Dolmatov, V.K.; Lakshmi, P.A. *J. Phys. B.* **2000**, *33*, 251.
- [54] Ludeña, E.V. *J. Chem. Phys.* **1978**, *69*, 1770.
- [55] Sen, K.D.; Garza, J.; Vargas, R.; Vela, A. *J. Mol. Struct.: THEOCHEM* **2000**, *501*, 183.
- [56] Garza, J.; Vargas, R.; Vela, A. *Phys. Rev. E*, **1998**, *58*, 3949.
- [57] Chattaraj, P.K.; Sarkar, U. *J. Phys. Chem. A* **2003**, *107*, 4877.
- [58] Garza, J.; Vargas, R.; Aquino, N.; Sen, K.D. *J. Chem. Sci.* **2005**, *117*, 379.
- [59] Sarjar, U.; Giri, S.; Chattaraj, P.K. *J. Phys. Chem. A* **2009**, *113*, 10759.
- [60] Chattaraj, P.K.; Sarkar, U. *Chem. Phys. Lett.* **2003**, *372*, 805.
- [61] Benerjee, A.; Sen, K.D.; Garza, J.; Vargas, R.; *J. Chem. Phys.* **2002**, *116*, 4054.

- [62] Connerade, J.; Dolmatov, V. *J. Phys. B: At. Mol. Opt. Phys.* **1998**, *31*, 3557.
- [63] Sen, K.D.; Garza, J.; Vargas, R.; Vela, A. *Proc. Indian Nat. Sci. Acad.* **2004**, *70A*, 675.
- [64] Kahn, O. *Molecular Magnetism*, VCH Publishers, Inc., New York, 1993.
- [65] Griffith, J.S. *J. Inorg. Nucl. Chem.* **2** 1956 p. 1.
- [66] Griffith, J.S. *J. Inorg. Nucl. Chem.* **2** 1956 p. 229.
- [67] Lembarki, A.; Rogemond, F.; Chermette, H. *Phys. Rev. A* **1955**, *52*, 3704.
- [68] Garza, J.; Nichols, J.A.; Dixon, D.A. *J. Chem. Phys.* **2000**, *112*, 1150.
- [69] Baer R.; Neuhauser, D. *Phys. Rev. Lett.* **2005**, *94*, 043002.
- [70] Cencek, W.; Szalewicz, K. *J. Chem. Phys.* **2013**, *139*, 24104.
- [71] Carmona-Espíndola, J.; Gázquez, J.L.; Vela, A.; Trickey, S.B. *J. Chem. Phys.* **2015**, *142*, 54105.
- [72] Kummel, S.; Kronik, L. *Rev. Mod. Phys.* **2008**, *80*, 3.
- [73] Lee, C.; Yang, W.; Parr, R.G. *Phys. Rev. B* **1988**, *37*, 785.
- [74] Garza, J.; Robles, J. *Phys. Rev. A* **1993**, *47*, 2680.
- [75] Garza, J.; Vargas, R.; Vela, A.; Sen, K.D. *J. Mol. Struct.(THEOCHEM)* **2000**, *501*, 183.
- [76] Garza, J.; Vargas, R. *Electronic Structure of Quantum Confined Atoms and Molecules*, Springer, Cham **2014**, 205.
- [77] Garza, J.; Vargas, R. *Adv. Quantum Chem.* **2009**, *57*, 241.
- [78] Körzdörfer, T. *J. Chem. Phys.* **2011**, *134*, 094111.
- [79] Warshel, A.; Levitte, M. *J. Mol. Biol.* **1976**, *103*, 227.
- [80] Senn, H.M.; Thiel, W. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 1198.
- [81] Grande-Aztatzi R.; Rivillas-Acevedo, L.; Quintanar, L.; Vela, A. *J. Phys. Chem. B* **2013**, *117*, 789
- [82] Siegbahn, P.E.M.; Blomberg, M.R.A. *Annu. Rev. Phys. Chem.* **1999**, *50*, 221.
- [83] Siegbahn, P.E.M. *Q. Rev. Biophys.* **2003**, *36*, 91.
- [84] Gomez-Castro, C.Z.; Vela, A.; Quintanar, L.; Grande-Azrarzi, R.; Mineva, T.; Gousort, A. *J. Phys. Chem. B* **2014**, *118*, 10052.

- [85] Perry, J.J.P.; Shin, D.S.; Getzoff, E.D.; Tainer, J.A. *Biochimica et Biophysica Acta*. **2010**, *1804*, 245.
- [86] Keele, B.B.; McCord, J.M.; Fridovic, I. *J. Biol. Chem.* **1970**, *245*, 6176.
- [87] Ose, D.E.; Fridovich, I. *J. Biol. Chem.* **1976**, *251*, 1217.
- [88] Weisiger, R.A.; Fridovic, I. *J. Biol. Chem.* **1973**, *248*, 4793.
- [89] Riley, D.P. *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 2573.
- [90] Rulíšek, L.; Jensen, K.P.; Lundgren, K.; Ryde, U. *J. Comput. Chem.* **2006**, *27*, 1398.
- [91] Getzoff, E.D.; Cabelli, D.E.; Fisher, C.L.; Parge, H.E.; Viezzoli, M.S.; Banci, L.; Hallelwell, R.A. *Nature* **1992**, *358*, 347.
- [92] L ev eque, V.J.P.; Stroupe, M.E.; Lepock, J.R.; Cabelli, D.E.; Tainer, J.A.; Nick, H.S.; Silverman, D.N. *Biochemistry* **2000**, *39*, 7131.
- [93] Youn, H.D.; Kim, E.J.; Roe, J.H.; Hah, Y.C.; Kang, S.O. *Biochem. J.* **1996**, *318*, 889.
- [94] Tainer, J.A.; Getzoff, E.D.; Beem, K.M.; Richardson, J.S.; Richardson, D.C. *J. Mol. Biol.* **1982**, *160*, 181.
- [95] Sugio, S.; Hiraoka, B.Y.; Yamakura, F. *Eur. J. Biochem.* **2000**, *267*, 3487.
- [96] Schmidt, B.; Meier, B.; Parak, F. *J. Biol. Inorg. Chem.* **1996**, *1*, 532.
- [97] Whittaker, J.W. *Biochem. Soc. Trans.* **2003**, *31*, 1318.
- [98] Renault, J.P.; Verch ere-Be aur, C.; Morgenstern-Badarau I. *Inorg. Chem.* **2000**, *39*, 2666
- [99] Li, J.; Fisher, C.L.; Konecny, R.; Bashford, D.; Noodleman, L. *Inorg. Chem.* **1999**, *38*, 929.
- [100] Schwartz, A.L.; Yikilmaz, E.; Vance, C.K.; Vathyam, S.; Koder, R.L.; Miller, A.-F. *J. Inorg. Biochem.* **2000**, *80*, 247.
- [101] Jackson, S.M.J.; Cooper, J.B. *BioMetals* **1998**, *11*, 159.
- [102] Hunter, T.; Bannister, J.V.; Hunter, G.J. *Eur. J. Biochem.* **2002**, *269*, 5137.
- [103] Jackson, T.A.; Gutman, C.T.; Maliekal, J.; Miller, A.-F.; Brunold, T.C. *Inorg. Chem.* **2013**, *52*, 3356.
- [104] Liu, X. H.; Sun, M.; Yue, J.J.; Yin, Y.X.; Liu, X.L.; Miao, F.M. *Mol. struct.: THEO-CHEM* **2003**, *620*, 227.



- [105] Lah, M. S.; Dixon, M. M.; Pattridge, K. A.; Stallings, W. C.; Free, J. A.; Ludwig, M. L. *Biochemistry* **1995**, *34*, 1646.
- [106] Maliekal J.; Karapetian, A.; Vance, C.; Yikilma, E.; Wu, Q.; Jackson, T.; Brunold, T.C.; Spiro, T.G.; Miller, A.-F. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 15064.
- [107] Jackson, T.A.; Karapetian, A.; Miller, A. -F.; Brunold, T.C. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 12477.
- [108] Jackson, T.A.; Brunold, T.C. *Acc. Chem. Res.* **2004**, *37*, 461.
- [109] Han, W.-G.; Lovell, T.; Noodleman, L. *Inorg. Chem.* **2002**, *41*, 205.
- [110] Abreu I.A.; Cabelli D.E. *Biochimica et Biophysica Acta* **2010**, *1804*, 263.
- [111] Wagner, U.G.; Pattridge, K.A.; Ludwiig, M.L.; Stallings, W.C.; Weber, M.M.; Oefner, C.; Frolow, F.; Sussman, J.L. *Protein, Sci.* **1993**, *2*, 814.
- [112] Flückiger, S.; Mittl, P.R.E.; Scapozza, L.; Fijten, H.; Folkers, G.; Grütter, M.G.; Blaser, k.; Cramer, R. *J. Immunol.* **2002**, *168*, 1267.
- [113] Srnec, M.; Aquilante, F.; Ryde, U.; Rulísek, L. *J. Phys. Chem. B* **2009**, *113*, 6074.
- [114] Jackson, T.A.; Xie, J.; Yikilmaz, E.; Miller, A.-F.; Brunold, T.C. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 10833.
- [115] Whittaker, M.M.; Whittaker, J.W. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 5528.
- [116] Bull, C.; Niederhoffer, E.C.; Yoshida, T.; Fee, J.A. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 4069.
- [117] Ludwig, M.L.; Metzger, A.L.; Pattridge, K.A.; Stallings, W.C. *J. Mol. Biol.* **1991**, *219*, 335.
- [118] Slykhouse, T.O.; Fee, J.A. *J. Biol. Chem.* **1976**, *251*, 5472.
- [119] Tabares, L.C.; Cortez, N.; Hiraoka, B.Y.; Yamakura, F.; Un, S. *Biochemistry* **2006**, *45*, 1919.
- [120] Miller, A.-F.; Sorkin, D.L.; Padmakumar, K. *Biochemistry* **2005**, *44*, 5969.
- [121] Whittaker, J.W.; Solomon, E.I. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110* 5329.
- [122] Whittaker, M.M.; Whittaker, J.W. *Biochemistry* **1996**, *35*, 6762.
- [123] Tabares, L.C.; Gtjens, J.; Un, S. *Biochimica et Biophysica Acta* **2010**, *1804*, 308.
- [124] Yikilmaz, E.; Rodgers, D.W.; Miller, A.-F. *Biochemistry* **2006**, *45*, 1151.

- [125] L eveque, V.J.-P.; Vance, C.K.; Nick, H.S.; Silverman, D.N. *Biochemistry* **2001**, *40*, 10586.
- [126] Vance, C.K.; Miller, A.-F. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 461.
- [127] Vance, C.K.; Miller, A.-F. *Biochemistry* **2001**, *40*, 13079.
- [128] Carrasco, R.; Morgenstern-Badarau, I.; Cano, J. *Inorg. Chim. Acta* **2007**, *360*, 91.
- [129] Blomberg, M.R.A.; Siegbahn, P.E.M. *J. Phys. Chem. B*, **2001**, *105*, 9375.
- [130] Whittaker, M.M.; Ekberg, C.A.; Edwards, R.A.; Baker, E.N.; Jameson, G.B.; Whittaker, J.W. *J. Phys. Chem. B* **1998**, *102*, 4668.
- [131] Jackson, T.A.; Karapetian, A.; Miller, A.-F.; Brunold, T.C. *Biochemistry* **2005**, *44*, 1504.
- [132] Bull, C.; Fee, J.A. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 3295
- [133] Hearn, A.S.; Tu, C.K.; Nick, H.S.; Silverman, D.N. *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 24457.
- [134] Hearn, A.S.; Stroupe, M.E.; Cabelli, D.E.; Lepock, J.R.; Tainer, J.A.; Nick, H.S.; Silverman, D.N. *Biochemistry* **2001**, *40*, 12051.
- [135] Hearn, A.S.; Stroupe, M.E.; Cabelli, D.E.; Ramilo, C.A.; Luba, J.P.; Tainer, J.A.; Nick, H.S.; Silverman, D.N. *Biochemistry* **2003**, *42*, 2781.
- [136] Edwards, R.A.; Baker, H.M.; Whittaker, M.M.; Whittaker, J.W.; Jameson, G.B.; Baker, E.N. *J. Biol. Inorg. Chem.* **1998**, *3*, 161.
- [137] Fisher, C.L.; Chen, J.-L.; Li, J.; Bashford, D.; Noodleman, L. *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 13498.
- [138] Mizuno, K.; Whittaker, M.M.;  hinger, H.P.B.; Whittaker, J.W. *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 27339.
- [139] Barra, D.; Schhina, M.E.; Simmaco, M.; Bannister, J.V.; Bannisterll, W.H.; Rotilio, G.; Bossa, F. *J. Biol. Chem.* **1984**, *259*, 12595.
- [140] Barra, D.; Schinina, M.E.; Bannister, W.H.; Bannister, J.V.; Bossa, F. *J. Biol. Chem.* **1987**, *262*, 1001.
- [141] Yikilmaz, E.; Xie, J.; Brunold, T.C.; Miller, A.-F. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 3482.
- [142] Sines, J.; Alison, S.; Wierzbicki, A.; McCammon; J.A. *J. Phys. Chem.* **1990**, *94*, 959.
- [143] Grove, L.E.; Xie, J.; Yikilmaz, E.; Miller, A.-F.; Brunold, T.C. *Inorg. Chem.* **2008**, *47*, 3978.

- [144] Abreu, I. A.; Rodriguez, J.A.; Cabelli, D.E. *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 24502.
- [145] Neves, R.P.P.; Sousa, S.F.; Fernández, P.A.; Ramos, M.J. *J. Chem. Theory Comput.* **2013**, *9*, 2718.
- [146] Handy, N.; Cohen, J.A.; *Molecular Physics* **2001**, *99*, 403.
- [147] Swart, M.; Ehlers, A.W.; Lammertsma, K. *Mol. Phys.* **2004**, *102*, 2467.
- [148] Valiev, M.; Bylaska, E.J.; Govind, N.; Kowalski, K.; Straatsma, T.P.; Van Dam, H.J.J.; Wang, D.; Nieplocha, J.; Apra, E.; Windus, T.L.; de Jong, W. *Computer Physics Communications* **2010**, *181*, 1477.
- [149] Wachters, A.J.H. *J. Chem. Phys.* **1970**, *52*, 1033.
- [150] Hehre, W.J.; Ditchfield, R.; Pople, J.A. *J. Chem. Phys.* **1972**, *56*, 2257.
- [151] Yang, W.; Mortier, W. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 5708.
- [152] Jensen, F. *Introduction to computational chemistry*, 2nd edn. John Wiley and Sons Ltd, Chichester, 2007.
- [153] Krishnan, R.; Binkley, J.S.; Seeger, R.; Pople, J.A. *J. Chem. Phys.* **1980**, *72*, 650.
- [154] Bader, R.F. *Atoms in molecules: a quantum theory, international series of monographs on* Vol 22. Oxford Science, Oxford. 1990.
- [155] Humphrey, W.; Dalke, A.; Schulten, K. *J. Mol. Grap.* **1996**, *13*, 33.
- [156] Besler, B.H.; Merz Jr, K.M.; Kollman P.A. *J. Comput. Chem.* **1990**, *11*, 431.
- [157] Nalewajski, R. F.; Parr, R. G. *J. Chem. Phys.* **1982**, *77*, 399.
- [158] Hsu, J.L.; Hsieh, Y.; Tu, C.; OConnor, D.; Nick, H.S.; Silverman, D. *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 17687.
- [159] Zielinski, F.; Tognetti, V.; Joubert, L. *Chem. Phys. Lett.* **2012**, *527*, 67.