



Universidad de Concepción  
Dirección de Postgrado  
Facultad de Ciencias Químicas-Programa de Doctorado en Ciencias con Mención  
en Química

**Funciones de Fukui en sistemas biológicos usando  
simulaciones de dinámica molecular**



Tesis para optar al grado de Doctor en Ciencias con Mención en  
Química

Javier Alejandro Oller Ledo  
Concepción-Chile  
Año 2019

Profesor Guía: Dr. Esteban Vöhringer-Martinez  
Dpto. de Físico Química, Facultad de Ciencias Químicas  
Universidad de Concepción



*Dedicado a la memoria de mi padre*

# Agradecimientos

A Dios por haberme dado el regalo de la vida y por darme tantas cosas maravillosas.

A mi madre Diana y a mi padre Carlos por ser los mejores padres del mundo, por inculcarme unos buenos valores familiares, por su infinito cariño y por servir de modelos a lo largo de los años.

A mi pareja Sydney por su amor y compañía a lo largo de todos estos años.

A mi Abuela Elida y hermano Christian por su incondicional apoyo y ser parte fundamental en mi vida.

Al profesor Esteban Vöhringer-Martinez por sus enseñanzas y guía a lo largo de la investigación doctoral.

A los profesores Paul Ayers, Adelio Matamala, Stefan Vogt-Geisse, Patricia Perez por sus valiosos consejos y contribuciones.

A todo el grupo QCMM por haber sido un excelente lugar de aprendizaje, Gracias a David, Oscar, Danilo, Max, Aharon, Duvan, Giulia, Alejandro y Carlos. Por compartir buenos momentos.

A la Universidad de Concepción, en especial al Departamento de Físico-Química de la Facultad de Ciencias Químicas.

A Conicyt por el apoyo en la realización del Doctorado.

# Tabla de Contenido

<b>Lista de Figuras</b>	<b>vi</b>
<b>Lista de Tablas</b>	<b>viii</b>
<b>1. Resumen</b>	<b>x</b>
<b>2. Introducción</b>	<b>1</b>
2.1. Estado del arte . . . . .	10
2.2. Hipótesis y objetivos . . . . .	12
<b>3. Métodos</b>	<b>14</b>
3.1. Reactividad Química. Teoría conceptual del funcional de la densidad	15
3.1.1. Descriptores globales . . . . .	15
3.1.2. Descriptores locales . . . . .	19
3.1.3. Descriptores locales condensados . . . . .	22
3.2. Descripción electrónica del sistema de estudio . . . . .	27
3.2.1. Mecánica Cuántica . . . . .	27
3.2.2. Teoría del funcional de la densidad . . . . .	30
3.3. Dinámica molecular . . . . .	35
3.3.1. Métodos QM-MM . . . . .	37
3.3.2. Campo de fuerza . . . . .	41
3.3.3. Termostato de Langevin . . . . .	42
3.3.4. Método de Umbrella Sampling . . . . .	43
3.4. Función de Fukui condensada atómica ponderada por la distribución de Boltzmann . . . . .	44
<b>4. Resultados</b>	<b>50</b>
4.1. Reactividad química de compuestos $\alpha,\beta$ -insaturados en vacío y sol- vente implícito. . . . .	50
4.1.1. Validación de descriptores de reactividad para moléculas $\alpha,\beta$ - insaturadas . . . . .	50

4.1.2. Descriptores de reactividad en ésteres, tioésteres y amidas $\alpha,\beta$ -insaturados . . . . .	57
4.1.3. Resumen de la primera sección de resultados . . . . .	66
4.2. Reactividad química de compuestos $\alpha,\beta$ -insaturados en fase condensada y sistemas biológicos. . . . .	68
4.2.1. Análisis Conformacional del sustrato . . . . .	69
4.2.2. Efecto del entorno y dinámica molecular en la función de Fukui condensada a átomos . . . . .	71
4.2.3. Activación del sustrato por la enzima Ccr . . . . .	79
4.2.4. Resumen de la segunda sección de resultados . . . . .	84
<b>5. Conclusión</b>	<b>86</b>
<b>Bibliografía</b>	<b>89</b>
<b>A. Anexo: Función de Fukui condensada atómica <math>f^+</math> en vacío y solvente implícito como sistemas de comparación</b>	<b>97</b>



# Lista de Figuras

2-1. Esquema de las derivadas de la energía con respecto al número de electrones y potencial externo del sistema, obteniendo descriptores globales y locales . . . . .	3
2-2. Fluctuaciones en la reactividad debido a cambios conformacionales y efecto polarizante del medio. . . . .	6
2-3. Reacción de reducción y subsecuente carboxilación del Crotonyl-CoA. . . . .	8
3-1. Flujograma para el cálculo de la Función de Fukui condensada atómica ponderada por la distribución de Boltzmann (BW-AC-FF) . . . . .	49
4-1. Cetonas $\alpha,\beta$ -insaturadas electrofílicas usadas para validar los descriptores de reactividad globales y locales. . . . .	51
4-2. Función de Fukui condensada $f^+(\mathbf{r})$ (en azul) y blandura local $s^+(\mathbf{r})$ (en verde) para el átomo de carbono $\beta$ de las moléculas del conjunto de validación (aproximación FMR ) vs. valores de log de las constantes de velocidad experimental $k$ ( $M^{-1}min^{-1}$ ). . . . .	56
4-3. Ataque nucleofílico del anión hidruro en moléculas carboxílicas $\alpha,\beta$ -insaturadas . . . . .	58
4-4. Relación entre $\Delta N_{max}$ and $\omega$ para moléculas carboxílicas $\alpha,\beta$ -insaturadas en fase solvente. Amidas en azul, ésteres en verde y tioésteres en rojo. . . . .	60
4-5. Función de Fukui $f^+(\mathbf{r})$ de molécula neutra Me-S-Me en vacío. . . . .	62
4-6. Reacción de carboxilación del enolato formado a partir de la adición del hidruro. . . . .	63
4-7. Función de Fukui $f^-(r)$ de la molécula Me-S-Me aniónica en vacío. . . . .	66
4-8. Esquema que representa los conformeros más estables del tioéster $\alpha,\beta$ -insaturado con las energías libre relativas en kcal/mol calculadas bajo la aproximación del rotor rígido-oscilador armónico a nivel de teoría $\omega B97X/def2-svp$ en vacío y con solvente implícito representando la solución acuosa . . . . .	70
4-9. Energías potenciales (kcal/mol) calculadas usando DFT a nivel de teoría $\omega B97X/def2-svp$ en vacío y usando el modelo de solvente implícito SMD comparado con cálculos DFTB3 en vacío en la transición conformacional asociada con los conformeros más estables de la figura 3-8 . . . . .	72

- 4-10.** Energía libre en kcal/mol en la transición conformacional descrita por la rotación del enlace simple entre los dos conformeros más estables en (a) vacío, (b) solvente implícito, (c) solvente explícito (agua) a 300 K y (d) solvente explícito (agua) a 360 K. . . . . 74
- 4-11.** Función de Fukui condensada promedio en el carbono  $C_\beta$  (rojo) y átomo de carbono carbonílico (azul) en el metil tioester  $\alpha, \beta$ -insaturado por ventana (umbrella sampling) a lo largo de la rotación del enlace simple resaltado en la figura 4-8 en diferentes ambientes: (a) vacío, (b) usando una representación implícita de la solución acuosa, (c) simulaciones QM/MM con moléculas de agua explícitas a 300 K, (d) simulaciones QM/MM con moléculas de agua explícitas a 360 K. . . . 76
- 4-12.** Número promedio de enlaces de hidrógeno en solvente explícito a  $T=300$  K (verde) y  $T=360$  K (negro). . . . . 78
- 4-13.** Histogramas de valores de función de Fukui condensada  $f^+$  del átomo de carbono  $C_\beta$  (rojo) y átomo  $C_{C=O}$  (azul) en la enzima CCr para diferentes conformaciones representativas de la enzima equilibrada: (a) 80 ns, (b) 85 ns, (c) 90 ns, (d) 95 ns. . . . . 81
- 4-14.** (a) Ángulo diedro ( $C_\beta-C_\alpha-C-S$ ) vs. tiempo de simulación (ps) en la enzima CCr. (b) Función de Fukui condensada  $f^+$  vs. Ángulo diedro en el ambiente enzimático. . . . . 83
- A-1.** Función de Fukui condensada a átomo  $f^+$  calculada desde estructuras optimizadas a lo largo de la rotación del diedro principal descrito con anterioridad en vacío y solvente implícito como sistemas de comparación. 97

# Lista de Tablas

4-1.	Descriptores globales para moléculas en el conjunto de validación de la Figura 4.1 usando el modelo cuadrático de energía y el nivel de teoría $\omega$ B97X-D3 / 6-311G(d,p) en solución acuosa (modelo de solvatación SMD). Log(k) representa los valores de las constantes de velocidad experimentales en $M^{-1}min^{-1}$ , $\omega$ es la electrofiliidad en (eV), $\Delta N_{max}$ es la cantidad fraccionada de una carga elemental que el sistema tiene que obtener para alcanzar $N_{max}$ electrones, $\varepsilon_{LUMO}$ es la energía del orbital molecular desocupado mas bajo en eV y $S$ es la blandura química en $E_h$ . . . . .	52
4-2.	Descriptores locales condensados para las moléculas del conjunto de validación usando el modelo de energía cuadrático y lineal a nivel de teoría $\omega$ B97X-D3 / 6-311G(d,p) basados en la aproximación de orbital molecular de frontera (FMO) en solución acuosa (modelo de solvatación SMD) y los valores de log de constante de velocidad experimental k ( $M^{-1}min^{-1}$ ). $l_{\omega;N}$ es la respuesta local condensada de la electrofiliidad $\omega$ , $f^+$ es la función de Fukui lineal condensada y $s^+$ es la blandura local condensada (en $E_h$ ) para los átomos diferentes en cada molécula. . . . .	53
4-3.	Descriptores globales de electrofiliidad (en eV) para ésteres, tioésteres y amidas $\alpha, \beta$ -insaturados neutras a nivel de teoría $\omega$ B97X-D3 / 6-311G(d,p) en vacío y solución acuosa (modelo de solvatación SMD). . . . .	58
4-4.	Descriptores locales para la electrofiliidad de ésteres, tioésteres y amidas $\alpha, \beta$ -insaturados neutras (modelo de energía lineal y cuadrático bajo la aproximación FMR) usando a su vez aproximación de orbital molecular de frontera (FMO)( $\omega$ B97X-D3 / 6-311G(d,p))en vacío y solución acuosa (modelo de solvatación SMD). . . . .	61
4-5.	Descriptores globales (en eV) para tioéster, ester y amidas aniónicas $\alpha, \beta$ -insaturadas ( $\omega$ B97X-D3 / 6-311++G(d,p)) en vacío y solución acuosa (modelo de solvatación SMD). . . . .	64

- 4-6.** Función de Fukui condensada  $f^-$  de diferentes átomos (en corchetes) para tioéster, éster y amidas aniónicas  $\alpha, \beta$ -insaturadas ( $\omega$ B97X-D3 / 6-311++G(d,p), aproximación FMR) en vacío y solución acuosa (modelo de solvatación SMD). . . . . 65
- 4-7.** Función de Fukui condensada a átomo ponderada por la distribución de Boltzmann  $\langle f^+ \rangle$  y  $\langle f^- \rangle$  a 300 K ( $\omega$ B97X / def2-svp) de los sitios atómicos más reactivos en metil tioester  $\alpha, \beta$ -insaturado en diferentes ambientes moleculares. (Desviación estándar en paréntesis) . . . . . 82



# 1. Resumen

Existe un continuo interés en la racionalización de los modelos de reactividad existentes y el desarrollo de nuevos modelos para la comprensión y la predicción de reactividad química. La comprensión y la modelización de la reactividad química es el objetivo principal de la llamada teoría conceptual del funcional de la densidad, que dio origen a indicadores o descriptores tanto globales como locales, entre los cuales se encuentra la función de Fukui.

Basados en la Teoría conceptual del funcional de la densidad se estudió en este trabajo la reactividad química en el sustrato de la enzima crotonyl-CoA carboxilasa reductasa, específicamente tomando en cuenta las reacciones involucradas en la fijación de CO<sub>2</sub>. Esto implica la reducción de los compuestos carboxílicos neutros  $\alpha,\beta$ -insaturados por un ataque nucleofílico de un anión hidruro de NADPH y el siguiente ataque electrofílico por el dióxido de carbono. Esta enzima en la actualidad se ha estudiado experimentalmente debido a que permite fijar el CO<sub>2</sub> de la atmósfera para luego convertirlo en compuestos útiles como biocombustibles, polímeros, etc.

A partir del sustrato original se estudió al 2-butenotioato de metilo tomando en cuenta que posee dos posibles sitios reactivos. Se validaron los descriptores de reactividad en compuestos  $\alpha,\beta$ -insaturados, específicamente un conjunto de cetonas  $\alpha,\beta$ -insaturadas. Con los descriptores validados, se estudió la reactividad de ésteres y amidas  $\alpha,\beta$ -insaturados como posibles sustratos alternativos para la fijación de CO<sub>2</sub>. Se encontró que los valores condensados de la función de Fukui lineal dentro de la aproximación de fragmento de respuesta molecular describen mejor la reactividad de las cetonas  $\alpha,\beta$ -insaturadas del conjunto de validación y el mismo descriptor localiza correctamente el sitio más reactivo en los ésteres, amidas y tioésteres. Para los dos procesos relevantes involucrados en la fijación de CO<sub>2</sub>, las amidas presentan la mayor reactividad en vacío y solución acuosa en comparación con los ésteres y tioésteres, lo cual las hace un candidato ideal alternativo para el estudio a futuro de la reactividad en la enzima.

También se abordó el estudio de la reactividad química de moléculas en solventes explícito y entorno enzimático. Para esto se diseñó una metodología, la cual consistió en combinar las simulaciones de dinámica molecular Born-Oppenheimer QM/MM para obtener los microestados (configuraciones) del sistema molecular de

estudio y luego basados en estructuras representativas, calcular las respectivas funciones de Fukui condensada atómicas. Finalmente los distintos valores de funciones de Fukui se ponderaron por la distribución de Boltzmann para obtener un descriptor (BW-AC-FF) desde un enfoque macroscópico termodinámico. Así esta nueva metodología propuesta permite captar las fluctuaciones de la reactividad química debido a cambios conformacionales del sistema molecular y el efecto polarizante sobre la densidad electrónica por parte del entorno molecular. Como resultado principal se pudo evidenciar que el entorno de la proteína aumenta la reactividad del sustrato con respecto al solvente, mediante la eliminación de enlaces de hidrógeno soluto-solvente en los dos pasos elementales del mecanismo de reacción: el ataque nucleofílico del anión hidruro de NADPH sobre el tioéster  $\alpha, \beta$ -insaturado y el ataque electrofílico de dióxido de carbono en la especie de enolato formada.



## 2. Introducción

El estudio de la reactividad química es un campo clave de la investigación en la química moderna. El concepto de reactividad refleja la susceptibilidad de una sustancia hacia una reacción química específica, y por lo tanto es importante en diversos campos como: el diseño de nuevos compuestos, en la comprensión de los sistemas biológicos, y en ciencias de materiales. Como consecuencia, existe un continuo interés en la racionalización de los modelos de reactividad existentes y el desarrollo de nuevos modelos para la comprensión y la predicción de reactividad química. Tales modelos van desde unos bastante simples basados en electrostática hasta los más avanzados basados en química cuántica.

La comprensión y la modelización de la reactividad química es el objetivo principal de la llamada teoría conceptual del funcional de la densidad DFT,<sup>1-6</sup> desarrollada desde finales de 1970 y principios de 1980, por R. G. Parr. La misma se basa en la idea de que la densidad electrónica es la cantidad fundamental para la descripción de estados fundamentales atómicos y moleculares. Parr y colaboradores, y más tarde una gran comunidad de teóricos orientados químicamente, fueron capaces de dar definiciones nítidas a conceptos químicos que eran ya conocidos y que habían estado en uso durante muchos años en diversas ramas de la química (electronegatividad siendo el ejemplo más prominente). Esto permitió cuantificar estos conceptos por una base matemática. Este campo ha permitido poner una base teórica más firme a importantes conceptos conocidos como la mencionada electronegatividad,<sup>7-9</sup> la teoría

de los ácidos y bases duros y blandos,<sup>10-16</sup> y otros como el principio de máxima dureza.<sup>17-23</sup>

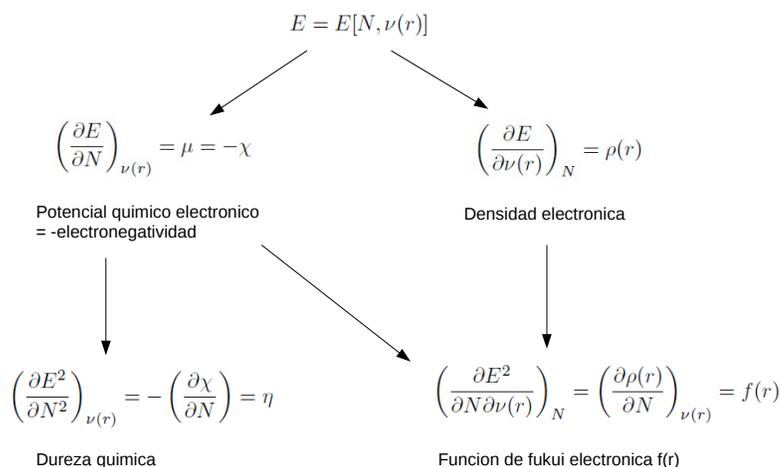
En el enfoque de la teoría funcional de la densidad (DFT) a la reactividad química, los indicadores clave de reactividad son las respuestas del sistema a los cambios en los parámetros globales (el número de electrones,  $N$ ), y una función local (por lo general el potencial externo,  $\nu(r)$ ) que definen el sistema. En cuanto al potencial externo este está dado por la energía de atracción nuclear que forma parte del hamiltoniano y se denomina externo porque debido a la aproximación de Born-Oppenheimer se realiza el cálculo mecánico-cuántico para los electrones manteniendo la posición de los núcleos fijos. De esta forma los núcleos son cargas fijas externas que ejercen su potencial coulombico a los electrones. Tomando como base la energía del sistema dependiente del número de electrones y del potencial externo, y luego derivando la misma, se obtienen de manera natural dos tipos de cantidades como se observa en la figura **2-1**. Primeramente se observan cantidades o descriptores globales como el potencial químico  $\mu$  y la dureza  $\eta$  y también se observan descriptores locales como la función de Fukui  $f(r)$ .

Una de las desventajas de los descriptores globales es que indican la reactividad a nivel general, o sea de toda la molécula. Si en cambio de diferenciar la energía con respecto a  $N$  se considera el potencial externo  $\nu(r)$  se obtienen descriptores locales que permiten estudiar la reactividad en una parte específica de la molécula. Primeramente se tiene que la densidad electrónica se puede definir como:

$$\rho(r) = \left( \frac{\partial E}{\partial \nu(r)} \right)_N \quad (2-1)$$

donde  $E$  es la energía,  $N$  el número de electrones, y  $\nu_{ext}$  es el potencial externo.

Basados en esta densidad electrónica como observable del sistema estudiado se



**Figura 2-1.:** Esquema de las derivadas de la energía con respecto al número de electrones y potencial externo del sistema, obteniendo descriptores globales y locales

tiene que uno de los indicadores de reactividad locales más comúnmente usados son las funciones de Fukui, las cuales se definen como: el cambio en la función de densidad  $\rho(r, N)$  de la molécula como una consecuencia del cambio del número de electrones  $N$  en la misma, bajo potencial externo constante.<sup>24</sup>

$$f(r, N) = \left(\frac{\partial \rho(r, N)}{\partial N}\right)_{\nu_{ext}} \quad (2-2)$$

donde  $\rho(r)$  es la densidad electrónica y  $N$  es el número total de electrones en el sistema

La función de Fukui predice como un aumento o disminución de densidad electrónica es redistribuida en la molécula. La dependencia en el número de electrones en la molécula es incluida explícitamente para todas las funciones de la ec.(2-1).

Para las moléculas aisladas a temperatura cero kelvin, la función de Fukui está mal

definida debido a la discontinuidad en la derivada.<sup>25-27</sup> Para resolver esta dificultad, se definen las funciones de Fukui por encima y por debajo, usando derivadas de un lado,

$$f^+(r, N) = \left( \frac{\partial(\rho(r, N))}{\partial N} \right)_{\nu_{ext}}^+ = \lim_{\varepsilon \rightarrow 0^+} \frac{\rho_{N+\varepsilon}(r) - \rho_N(r)}{\varepsilon} \quad (2-3)$$

$$f^-(r, N) = \left( \frac{\partial(\rho(r, N))}{\partial N} \right)_{\nu_{ext}}^- = \lim_{\varepsilon \rightarrow 0^+} \frac{\rho_N(r) - \rho_{N-\varepsilon}(r)}{\varepsilon} \quad (2-4)$$

Cuando una molécula acepta electrones, los electrones tienden a ir a las regiones en las cuales  $f^+(r)$  presenta mayor valores, ya que es en estos lugares donde la molécula es capaz de estabilizar de forma mas eficiente los electrones adicionales. Por lo tanto, una molécula es susceptible al ataque nucleofílico en sitios donde  $f^+(r)$  es mayor. Del mismo modo, una molécula es susceptible al ataque electrofílico en los sitios donde  $f^-(r)$  es grande, debido a que en estas regiones la remoción de electrones desestabiliza la molécula de menor manera. En la teoría conceptual del funcional de la densidad, las funciones de Fukui son los indicadores clave para la regioselectividad de reacciones controladas por transferencia de electrones.

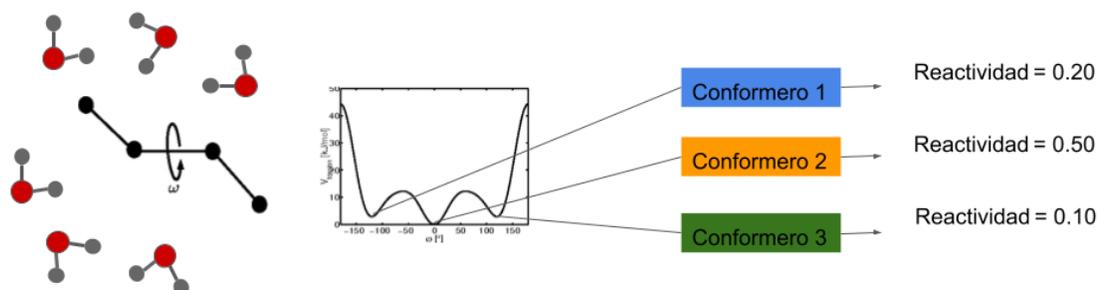
En la práctica es de suma importancia el estudio de la reactividad, específicamente el conocer de antemano los posibles sitios más reactivos de una molécula, para lo cual se utiliza la Teoría de Átomos en Moléculas (AIM), con lo cual se particiona el espacio real usando métodos como Hirshfeld-I,<sup>28</sup> Hirshfeld, etc, en los cuales se le da un peso a cada átomo consiguiendo de esta forma condensar la función de Fukui en cada uno de los átomos de la molécula. Químicamente hablando la condensación tiene una gran utilidad, debido a que permite representar la reactividad en cada átomo de la molécula y no en puntos en el espacio molecular como lo hace la función de Fukui sin condensar. También permite el estudio de reacciones químicas regioselectivas, entre

---

las cuales se podrían nombrar las reacciones que involucran ataques nucleofílicos y electrofílicos.

En la actualidad la mayor parte del estudio en reactividad química se ha realizado tomando en cuenta el sistema molecular de estudio representado por una única geometría molecular representativa y más estable (geometría optimizada), lo cual es válido para sistemas en vacío y bajo la influencia de un solvente implícito (medio dieléctrico isotrópico) pero desconoce la naturaleza estadística intrínseca del sistema que tiene su base en la mecánica estadística. Esta naturaleza estadística se hace notoria o cobra más fuerza en sistemas en fase condensada y en sistemas biológicos, donde coexisten al mismo tiempo diferentes conformaciones moleculares (bajo ambientes químicos diferentes) igualmente probables con reactividades químicas diferentes. Un ejemplo gráfico de esto se podría ilustrar en la figura **2-2** donde al rotar el ángulo diedro  $\omega$  se hace evidente la existencia de varios mínimos en la energía potencial que podrían presentar reactividades químicas diferentes debido no solamente al cambio conformacional sino también al efecto polarizante que ejerce el entorno sobre la molécula de estudio.

La naturaleza estadística basada en la mecánica estadística permite definir un sistema de estudio como un colectivo (macroestado), conformado por diferentes estructuras moleculares (microestados) ponderadas probabilísticamente por la distribución de Boltzmann, que tienen en común propiedades macroscópicas definidas. Para la búsqueda de las conformaciones (microestados) o puntos en el espacio de fase se utilizan en la actualidad métodos como los de dinámica molecular o métodos Monte Carlo. Los métodos de dinámica molecular están basados en las ecuaciones clásicas newtonianas para lo cual se supone válida la aproximación de Born-Oppenheimer en la cual el movimiento nuclear está desacoplado del movimiento electrónico (debido



**Figura 2-2.:** Fluctuaciones en la reactividad debido a cambios conformacionales y efecto polarizante del medio.

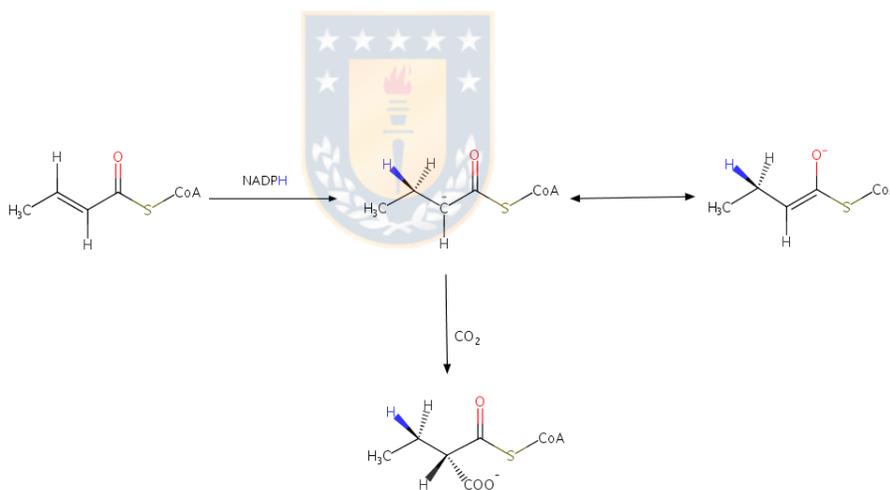
a la diferencia notoria de masas entre ambos). Este desacople permite describir el movimiento nuclear de forma clásica. Las simulaciones de dinámica molecular parten de la generación de una distribución microcanónica a partir de la evolución temporal del sistema de acuerdo a las ecuaciones clásicas newtonianas bajo la suposición de ergodicidad a tiempo infinito. De esta forma el sistema estará descrito por una colección de puntos en el espacio de fase a número de partícula  $N$ , volumen  $V$  y energía  $E$  constantes. Una de las principales desventajas del colectivo microcanónico es que la mayoría de los experimentos no son a energía constante, para lo cual se deriva otro colectivo muy importante llamado colectivo canónico, en el cual se fijan las propiedades termodinámicas  $N$ ,  $V$ ,  $T$ , donde  $T$  es la temperatura y que se caracteriza por un sistema en contacto térmico con una fuente infinita de calor. De esta forma la energía del sistema puede fluctuar manteniendo la temperatura del sistema constante, permitiendo describir los sistemas de estudio de manera mas cercana al

experimento.

La reactividad química no solo va a depender de las conformaciones del sistema sino también de las interacciones del sistema y a su vez de factores macroscópicos descritos con variables termodinámicas como temperatura, densidad o presión entre otras. Los sistemas biológicos presentan desafíos a la hora de predecir la reactividad química debido a que las moléculas pueden adoptar diferentes conformaciones inducidas por el entorno y los cambios conformacionales ocurren en diferentes escalas de tiempo. Durante la simulación de dinámica molecular o en cálculos posteriores a esta se requiere el uso de métodos para la descripción de las interacciones del sistema de estudio, el cual se puede aproximar de diferentes formas. Una forma ampliamente usada es dividir el sistema de estudio con métodos híbridos<sup>29</sup> que pueden ser QM/MM, QM/QM/MM en los cuales se hace uso de niveles de teoría mas o menos rigurosos de acuerdo a la zona molecular a estudiar. El uso de cada una de estas formas de describir el sistema va a depender también del tamaño de sistema de estudio y el tipo de propiedad que se requiere calcular. En el caso de sistemas conformados por muchos átomos como proteínas o fase acuosa se consideran para sus descripción campos de fuerza, en los cuales se reemplaza el hamiltoniano mecánico-cuántico por funciones matemáticas que describirán de forma clásica la interacción entre átomos. Estas contribuciones en la energía del sistema se pueden dividir bien sea por contribuciones enlazantes (enlaces covalentes, ángulos de valencia, ángulos torsionales propios e impropios) y contribuciones a la energía del sistema no enlazantes (término atractivo-repulsivo de Lennard-Jones para fuerzas de Van der Waals y término coulombico para las interacciones electrostáticas). Para el caso de sistemas de menor tamaño se podría considerar métodos semiempíricos o si se quiere estudiar propiedades dependientes de la densidad electrónica sería adecuado considerar

niveles de teoría más rigurosos como los derivados de la Teoría del Funcional de la densidad (DFT).

La complejidad en el estudio de la reactividad química variará tomando en cuenta diferentes ambientes, empezando con el sistema más sencillo e ideal que es el vacío, pasando por el solvente implícito y finalmente a sistemas explícitos como soluto rodeado por solvente o considerando el ambiente enzimático. En cuanto al estudio de la reactividad de estos sistemas explícitos los mismos son fuertemente dependientes de las conformaciones e interacciones intermoleculares como se mencionó anteriormente, por lo cual se propone en este trabajo una metodología para el tratamiento de la reactividad química especialmente para fase condensada y sistemas biológicos.



**Figura 2-3.:** Reacción de reducción y subsecuente carboxilación del Crotonyl-CoA.

En cuanto al sistema de estudio idóneo para este trabajo, se escogieron las reacciones químicas que involucran el ataque nucleofílico del anión hidrúro del NADPH sobre el crotonyl-CoA en la enzima crotonyl-CoA carboxilasa reductasa (CoA = Coenzima A) y la reactividad del anión formado a través del ataque electrofílico del dióxido de carbono<sup>30</sup> (ver figura 2-3). Adicionalmente se puede mencionar que el estudio de la reactividad del ataque nucleofílico del tioéster  $\alpha,\beta$ -insaturado del

---

crotonyl lleva consigo un desafío extra debido a que en la misma molécula se encuentran dos posibles sitios reactivos que serían el carbono carbonílico y el carbono beta. Tomando en cuenta esta dualidad en cuanto a la región más reactiva se tuvo que validar cada uno de los descriptores globales y locales basados en modelos de energía lineales y cuadráticos, comparándolos a su vez con datos experimentales de constantes de velocidad de reacción para compuestos orgánicos  $\alpha,\beta$ -insaturados.

Cada una de las reacciones químicas de reducción y carboxilación mencionadas anteriormente se estudiaron experimentalmente por Erb et.al.<sup>30</sup> en el entorno enzimático. De esta forma si se quiere comparar dicha reactividad química se debe de considerar el entorno de la enzima crotonyl-CoA carboxilasa reductasa, lo cual incrementa la complejidad del sistema estudiado. En cuanto a la importancia de esta enzima se tiene que recientemente se ha evidenciado que enzimas de la misma familia han mostrado ser capaces de catalizar varios tioésteres con diferentes sustituciones de la cadena alquílica.<sup>31</sup> La posibilidad de usar sustratos alternativos para la reacción catalizada permite una posible aplicación de estas enzimas en procesos industriales para crear compuestos orgánicos valiosos. Sin embargo para encontrar estos sustratos alternativos se requiere un método sistemático y racional que conserve o aumente la reactividad del sustrato sin alterar la unión con la enzima manteniendo la acción catalítica de la enzima. En procesos bioquímicos, sustratos como los tioésteres  $\alpha,\beta$ -insaturados están envueltos en la síntesis de ácidos grasos y juegan un papel importante en varios de estos procesos. Recientemente se ha evidenciado que participan en la fijación de dióxido de carbono en ciclos alternativos de fijación del carbono.<sup>30,32-34</sup> En este ciclo uno de los pasos importantes es la reducción del tioéster  $\alpha,\beta$ -insaturado por el ión hidruro de la nicotinamida adenina dinucleótido fosfato(NADPH) para producir el enolato que se unirá al CO<sub>2</sub> como se muestra en

la figura 2-3 y que corresponden a las reacciones de estudio en este trabajo.

## 2.1. Estado del arte

Los descriptores de reactividad han sido usados en diversas áreas, como la química orgánica para el estudio de reactividad de compuestos orgánicos,<sup>35-39</sup> en la bioquímica computacional para el acoplamiento molecular<sup>40</sup> y la detección de sitios activos.<sup>40</sup> También se ha utilizado en el estudio de mecanismos de reacción mostrando una importancia creciente dentro del campo de la catálisis enzimática. Como primeros pasos en el estudio de sistemas biológicos se han reportado en la literatura diferentes trabajos en los cuales se abordan variaciones en la reactividad química inducidos por cambios conformacionales y de ambiente considerando diferentes estructuras puntuales con variada afinidad o variando las estructuras proteicas en el analisis.<sup>40-44</sup>

En cuanto a la influencia del medio solvente se podría mencionar los trabajos de Fuentealba et al., en donde se estudio la función de Fukui en ambientes homogéneos como solventes usando el modelo de solvatación Onsager.<sup>45,46</sup> También se estudio el efecto del solvente implícito en descriptores globales como electrofilicidad por parte de Perez et al.<sup>47</sup> Recientemente Padmanabhan et al. realizaron estudios con modelos de solvente implícito mas avanzados<sup>48,49</sup> en los cuales se utilizó el modelo de solvatación COSMO para estudiar el efecto de la solvatación en la reactividad de una serie de clorobenzenos utilizando descriptores locales y globales . Estos métodos toman en cuenta la polarización de la densidad electrónica debida a propiedades macroscópicas dieléctricas del ambiente pero ignoran las interacción locales explícitas como los puentes de hidrógeno y su dinámica intrínseca, lo cual afecta la descripción del sistema y a su vez la estimación de la reactividad local.

Otros estudios han considerado la dependencia conformacional de descriptores de

reactividad en vacío. Tal es el caso de Parthasarathi et al. que analizaron descriptores de reactividad global como dureza química, potencial químico, electrofilicidad con respecto a modos normales y rotaciones internas.<sup>50</sup> Considerando métodos de dinámica molecular Liu et al.<sup>51,52</sup> estudiaron la relación conformacional de descriptores globales de reactividad usando simulaciones de DM bajo la aproximación de Born-Oppenheimer en fase gaseosa. Mas recientemente, la dependencia conformacional del soluto y de moléculas de solvente del entorno han sido estudiadas con método de muestreo Monte Carlo secuencial por Jaramillo et al.<sup>53</sup> Sus principales hallazgos fueron que las moléculas de agua explícitas cambian los descriptores de reactividad globales principalmente cuando estas moléculas son descritas usando mecánica cuántica en conjunto con el soluto. Con una metodología similar Safi et al. ha estudiado también descriptores de reactividad locales y globales de moléculas pequeñas diatómicas con el método de potencial de fragmento efectivo para describir el efecto de moléculas de agua del ambiente y sus orientaciones sobre los descriptores.<sup>54</sup> Los autores crearon orientaciones iniciales aleatorias de moléculas del solvente alrededor de diferentes solutos y optimizaron estas geometrías para así obtener descriptores globales y locales. Ellos concluyeron que los enlaces de hidrógeno entre solutos y moléculas de agua aumentan la blandura atómica condensada de los átomos electronegativos de bases de Lewis como  $\text{NH}_3$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  o haluros en ácidos próticos, acompañados con cambios en la geometría de los solutos.

Desde la perspectiva de la mecánica estadística, los descriptores de reactividad deberían considerar todas las conformaciones (microestados) que contribuyen al colectivo definido por las variables termodinámicas como el número de átomos, volumen y temperatura (NVT). Dependiendo de la complejidad del sistema molecular estos descriptores promediados por colectivo serían necesarios en fases como la condensa-

da cuando se considera el solvente de forma explícita y en un ambiente enzimático, con lo cual se tendría un descriptor más representativo para este tipo de sistemas y que pudiese ser comparado con datos experimentales. Basados en la literatura actual reportada se podría decir que existe un vacío en cuanto al tratamiento de la reactividad química por medio de descriptores que tomen en cuenta al sistema de estudio como un sistema estadístico(colectivo) y no como un sistema representado por una sola estructura optimizada.

## 2.2. Hipótesis y objetivos

### Hipótesis

Se postula que las funciones de Fukui condensadas a átomos obtenidas de simulaciones de dinámica molecular podrán describir correctamente la reactividad y regioselectividad de moléculas tipo crotonyl bajo condiciones de efecto de solvente y entorno de la enzima crotonyl-CoA carboxilasa reductasa. La reactividad y regioselectividad estan representadas experimentalmente por la constante de velocidad de reacción  $k_{cat}$  y los productos de la reacción reportados.

### Objetivo General

Determinar las funciones de Fukui condensadas usando diferentes aproximaciones de sistemas tipo crotonyl a través de simulaciones de dinámica molecular con metodología QM-MM incluyendo el entorno molecular.

## Objetivos específicos

1. Desarrollar una herramienta computacional para obtener funciones de Fukui condensadas desde simulaciones de dinámica molecular.
2. Calcular las funciones de Fukui condensadas a átomos para moléculas tipo crotonyl en fase gaseosa en simulaciones de dinámica molecular.
3. Calcular las funciones de Fukui condensadas a átomos para moléculas tipo crotonyl en fase condensada tomando en cuenta el solvente implícito y explícito a través de dinámica molecular QM-MM.
4. Calcular las funciones de Fukui condensadas a átomos para moléculas tipo crotonyl en fase condensada tomando en cuenta el solvente explícito y el entorno de la enzima crotonyl-CoA carboxilasa reductasa a través de dinámica molecular QM-MM.

### 3. Métodos

En este trabajo primeramente se realizó un estudio detallado de diferentes descriptores de reactividad basados en la DFT conceptual tomando como geometría molecular la obtenida de la estructura más estable (estructura optimizada) en vacío y solvente implícito. Luego de validar los respectivos descriptores se estudió la reactividad considerando un colectivo canónico de moléculas solvatadas explícitamente y bajo la influencia del ambiente enzimático.

Basado en el análisis de la reactividad química, en este capítulo se trata sobre los diferentes métodos empleados para dicho estudio: en primera instancia se explica la teoría usada para el estudio de la reactividad química basada en la DFT conceptual. En la misma se detallará sobre los descriptores de reactividad globales, locales, formas de condensar los descriptores locales basados en teorías de átomos en moléculas. Luego en la sección siguiente se explican los métodos usados para la descripción electrónica del sistema de estudio, la cual contempla una parte introductoria de mecánica cuántica aplicada a la química y los métodos basados en la teoría del funcional de la densidad DFT como el método de Kohn-Sham. Luego se introduce la metodología pertinente al abordaje de sistemas mas complejos como solutos en solvente explícito o en ambiente enzimático donde la inclusión de la dinámica molecular es necesaria. Aquí se abordará lo concerniente a la dinámica molecular, la utilización del método QM-MM, el termostato de langevin para conseguir un colectivo canónico

y el método Umbrella Sampling.

### 3.1. Reactividad Química. Teoría conceptual del funcional de la densidad

Según la teoría conceptual del funcional de la densidad la dependencia de la energía de un sistema molecular con el número de electrones puede ser representada por diferentes modelos: cuadrático, exponencial, lineal, etc.<sup>9,55,56</sup>

El modelo de energía cuadrático se representa de la siguiente forma:

$$E_{quad}(N; a_k) = a_0 + a_1N + a_2N^2 \quad (3-1)$$

y el modelo lineal:

$$E_{linear}(N; a_k) = a_0 + a_1N \quad (3-2)$$

Basados en estos modelos de energía se obtienen diversas derivadas (ver figura 2-1), bien sea con respecto al número de electrones o al potencial externo, dando de esta forma origen a una serie de descriptores de reactividad química globales y locales que serán explicados a continuación.

#### 3.1.1. Descriptores globales

Entre los indicadores de reactividad globales se encuentra el potencial químico  $\mu$ , que se obtiene de la derivada de la energía con respecto al número de electrones  $N$  a potencial externo constante, el cual por diferencias finita queda como:

$$\mu = -\chi = \left( \frac{\partial E}{\partial N} \right)_{\nu} = \frac{\Delta E}{\Delta N} = \frac{E(N+1) - E(N-1)}{(N+1) - (N-1)} = \frac{(E(N) - A) - (E(N) + I)}{2} \quad (3-3)$$

$$\mu = -\frac{(A+I)}{2} = -\chi_M \quad (3-4)$$

,donde  $\chi$  es la electronegatividad y A e I son la afinidad electrónica y potencial de ionización del sistema. Este potencial químico, cambiando de signo, no es más que la definición original de Mulliken para la electronegatividad. Dentro de la aproximación de Koopman's<sup>57</sup> :

$$\mu = -\frac{(A+I)}{2} = \frac{\varepsilon_{LUMO} + \varepsilon_{HOMO}}{2} \quad (3-5)$$

,donde  $\varepsilon_{HOMO}$  se refiere a la energía del orbital ocupado de más alta energía y  $\varepsilon_{LUMO}$  a la energía del orbital desocupado de más baja energía. El potencial químico es una medida de la tendencia que tienen los electrones a escapar del sistema. Una diferencia de potencial químico grande entre dos sistemas favorece la transferencia electrónica.

Otro descriptor de reactividad global derivado de la DFT conceptual es la dureza  $\eta$ . La misma se define como la segunda derivada de la energía respecto al número de electrones a potencial externo constante:

$$\eta = \frac{1}{2} \left( \frac{\partial^2 E}{\partial N^2} \right)_{\nu} = \frac{1}{2} \left( \frac{\partial \mu}{\partial N} \right)_{\nu} \quad (3-6)$$

La dureza puede ser considerada como una medida de la resistencia a la trans-

ferencia de carga. Variar el número de electrones en un sistema duro va a ser mas costoso energéticamente y por lo tanto este sistema tendrá poca tendencia a dar o aceptar electrones. La aproximación de diferencias finitas aplicada en este caso lleva a :

$$\eta = \frac{(I - A)}{2} = \frac{\varepsilon_{LUMO} - \varepsilon_{HOMO}}{2} \quad (3-7)$$

La dureza no es más que la diferencia entre la energía del LUMO y HOMO. En general una diferencia energética grande corresponde a sistemas estables y poco reactivos, mientras que cuando la diferencia de energía HOMO-LUMO sea pequeña es de esperar que el sistema sea poco estable y altamente reactivo. En el caso de la blandura  $S$ , esta se define como la inversa de la dureza como se muestra en la ec.3-8.

$$S = \frac{1}{\eta} = 2 \left( \frac{\partial N}{\partial \mu} \right)_\nu \quad (3-8)$$

Usando el modelo lineal se puede obtener solo el potencial químico como un descriptor global de la reactividad debido a que la derivada de la energía no es continua con respecto al número de electrones.<sup>25,27</sup> El potencial químico esta definido como la derivada por arriba y abajo de la energía con respecto al número de electrones a potencial externo constante,

$$\begin{aligned} \mu^+ &= \left( \frac{\partial E}{\partial N} \right)_{v(\mathbf{r})}^+ = -A \\ \mu^- &= \left( \frac{\partial E}{\partial N} \right)_{v(\mathbf{r})}^- = -I \end{aligned} \quad (3-9)$$

Descartando la relajación orbital sobre el cambio en el número total de electrones la afinidad electrónica  $A$  puede ser aproximada como la energía del orbital molecular

desocupado más bajo (LUMO)  $\varepsilon_{LUMO}$ . Por otra parte el potencial de ionización puede ser expresado como el negativo de la energía del orbital molecular ocupado más alto (HOMO)  $\varepsilon_{HOMO}$  por medio de la aplicación del teorema de Koopmans<sup>57</sup> en el método de Hartree-Fock. Usando la teoría del funcional de la densidad, el potencial de ionización esta relacionado con la energía del HOMO solo para el funcional exacto por medio del teorema de Janak<sup>58</sup> y la afinidad electrónica solo se relaciona con la energía del LUMO bajo ciertas circunstancias específicas.<sup>59</sup> Pero en este estudio no nos enfocamos en el valor exacto del potencial de ionización o en la afinidad electrónica sino en valores relativos entre moléculas similares usando funcionales DFT. Por lo tanto posibles errores de la aproximación discutida anteriormente serían similares en todas las moléculas y los valores relativos de las energías orbitarias reproducirán el correcto orden de reactividad de las moléculas. Esto fue confirmado en nuestros resultados cuando las energías de los orbitales fueron comparadas con los valores del potencial de ionización y de la afinidad electrónica calculada con métodos de diferencia finita, donde la energía del catión y anión son calculadas con el mismo método DFT en vacío.

De acuerdo con la definición de Parr,<sup>60</sup> la electrofilicidad  $\omega$  de una molécula puede ser definida como la diferencia de energía,  $\Delta E(N) = E_{N_0} - E_{N_{max}}$ , donde  $E_{N_0}$  es la energía de una molécula neutra y  $E_{N_{max}}$  es la energía de la molécula con la fracción máxima de un electrón que puede aceptar sin aumentar su energía. Basados en el modelo cuadrático de energía  $\Delta N_{max}$  se define como:

$$\Delta N_{max} = -\frac{\mu}{\eta} \quad (3-10)$$

y la electrofilicidad propuesta por Parr<sup>60</sup> adopta la siguiente forma:

$$\omega = \frac{\mu^2}{2\eta} \quad (3-11)$$

En el modelo lineal, la definición análoga para la electrofilidad sería  $\Delta E(N) = E_{N_0} - E_{N_0+1}$  y en este caso se iguala a la afinidad electrónica vertical  $A$ , la cual puede ser aproximada por la energía del LUMO o calculada por método de diferencia finita.

Para describir la nucleofilicidad  $N$  de una molécula se adoptó el método propuesto por Contreras *et al.*,<sup>61</sup> donde  $N = E_{N_0} - E_{N_0-1}$ . La nucleofilicidad  $N$  esta dada como  $N = -I$ , donde  $I$  corresponde con el potencial de ionización vertical. Para diferenciar la nucleofilicidad del número de electrones  $N$  se adopta la notación  $N_{FD}$ .

### 3.1.2. Descriptores locales

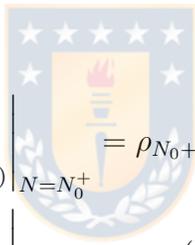
Una de las desventajas de los descriptores globales es que indican la reactividad a nivel general, o sea de toda la molécula. Si en cambio de diferenciar la energía con respecto a  $N$  se considera el potencial externo  $\nu(r)$  se obtienen descriptores locales que permiten estudiar la reactividad en una parte específica de la molécula. Entre los indicadores de reactividad locales mas comunmente usados se tienen las funciones de Fukui, las cuales se definen como la respuesta local de la densidad electrónica de una molécula al cambio en el número de electrones,

$$f(\mathbf{r}, N) = \left( \frac{\partial(\delta E / \delta \nu_{ext})_N}{\partial N} \right)_{\nu_{ext}} = \left( \frac{\partial \rho(\mathbf{r}, N)}{\partial N} \right)_{\nu_{ext}} \quad (3-12)$$

, donde  $E$  es la energía,  $N$  es el número de electrones,  $\nu_{ext}$  es el potencial externo y  $\rho(\mathbf{r}, N)$  la densidad electrónica de la molécula, que depende del número total de electrones  $N$  en la molécula.<sup>24</sup>

Para los sistemas no degenerados, la definición más frecuentemente utilizada de la función de Fukui se da como el cambio en la función de densidad  $\rho(r, N)$  de la molécula como una consecuencia del cambio del número de electrones  $N$  en la misma, bajo potencial externo constante.<sup>24</sup>

Basados en el modelo de energía lineal (eq. 3-13) la función de Fukui puede ser obtenida como una derivada por arriba y abajo con respecto al número de electrones a potencial externo constante, debido a que la derivada de  $\rho(\mathbf{r}, N)$  es discontinua<sup>25-27</sup> con respecto a  $N$ . En la práctica las funciones de Fukui se obtienen por cálculos de estructura electrónica de la densidad electrónica de sistemas que involucran la adición o pérdida de un electrón, como se aprecia en las siguientes ecuaciones:



$$\begin{aligned} \left( \frac{\partial \rho_N(\mathbf{r})}{\partial N} \right)_{v(\mathbf{r})} \Big|_{N=N_0^+} &= \rho_{N_0+1}(\mathbf{r}) - \rho_{N_0}(\mathbf{r}) = f_{N_0}^+(\mathbf{r}) \\ \left( \frac{\partial \rho_N(\mathbf{r})}{\partial N} \right)_{v(\mathbf{r})} \Big|_{N=N_0^-} &= \rho_{N_0}(\mathbf{r}) - \rho_{N_0-1}(\mathbf{r}) = f_{N_0}^-(\mathbf{r}) \end{aligned} \quad (3-13)$$

Cuando una molécula acepta electrones, los electrones tienden a ir a los lugares donde  $f^+(r)$  es grande, ya que es en estos lugares donde la molécula es capaz de estabilizar de forma mas eficiente los electrones adicionales. Por lo tanto, una molécula es susceptible al ataque nucleofílico en sitios donde  $f^+(r)$  es grande. Del mismo modo, una molécula es susceptible al ataque electrofílico en los sitios donde  $f^-(r)$  es grande, debido a que en estas regiones la remoción de electrones desestabiliza la molécula de menor manera. En la teoría conceptual del funcional de la densidad, las funciones de Fukui son los indicadores clave para la regioselectividad de reacciones controladas por transferencia de electrones.

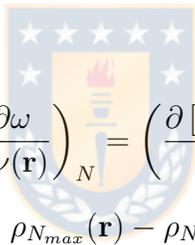
Descartando la relajación orbital con el cambio en el número total de electrones, el

método de orbital molecular de frontera(FMO<sup>24,62</sup>) aproxima la función de Fukui con la densidad molecular del orbital molecular ocupado más alto (HOMO) y el orbital molecular desocupado más bajo (LUMO) :

$$f_{N_0}^+(\mathbf{r}) = \rho_{N_0+1}(\mathbf{r}) - \rho_{N_0}(\mathbf{r}) \approx \rho^{LUMO}(\mathbf{r}) \quad (3-14)$$

$$f_{N_0}^-(\mathbf{r}) = \rho_{N_0}(\mathbf{r}) - \rho_{N_0-1}(\mathbf{r}) \approx \rho^{HOMO}(\mathbf{r}) \quad (3-15)$$

Basado en el modelo de energía cuadrático, Heidar-Zadeh *et al.*<sup>63</sup> propusieron el uso de un descriptor local para la electrofilicidad como:



$$l_{\omega;N}(\mathbf{r}) = \left( \frac{\partial \omega}{\partial \nu(\mathbf{r})} \right)_N = \left( \frac{\partial [E(N_{max}) - E(N_0)]}{\partial \nu(\mathbf{r})} \right)_N$$

$$= \rho_{N_{max}}(\mathbf{r}) - \rho_{N_0}(\mathbf{r}) \quad (3-16)$$

Con el modelo de energía cuadrático para la densidad electrónica de un sistema de  $N$  electrones se obtiene la siguiente expresión

$$l_{\omega;N}(\mathbf{r}) = - \left( \frac{\mu}{\eta} \right) f(\mathbf{r}) + \frac{1}{2} \left( \frac{\mu}{\eta} \right)^2 f^2(\mathbf{r}) \quad (3-17)$$

donde  $f(\mathbf{r})$  es la función de Fukui cuadrática y  $f^2(\mathbf{r})$  es el descriptor dual.<sup>64-67</sup>

Siguiendo el mismo razonamiento se propone en este trabajo una respuesta local a la nucleofilicidad  $N_{FD}$ . Debido a que la nucleofilicidad  $N_{FD}$  está representada por  $-I$ , el negativo del potencial de ionización, la respuesta local de la nucleofilicidad esta definida como:

$$\begin{aligned}
 l_{N_{FD};N}(\mathbf{r}) &= \left( \frac{\partial N}{\partial \nu(\mathbf{r})} \right)_N = \left( \frac{\partial [E(N_0) - E(N_0 - 1)]}{\partial \nu(\mathbf{r})} \right)_N \\
 &= \rho_{N_0}(\mathbf{r}) - \rho_{N_0-1}(\mathbf{r})
 \end{aligned}
 \tag{3-18}$$

Reemplazando la densidad electrónica para el modelo de energía cuadrático da:

$$l_{N_{FD};N}(\mathbf{r}) = f(\mathbf{r}) - \frac{1}{2}f^2(\mathbf{r}) = f^-(\mathbf{r}).
 \tag{3-19}$$

Si la densidad electrónica del modelo de energía lineal es usado en vez de reemplazar la densidad electrónica anterior, la misma función  $f^-(\mathbf{r})$  es obtenida.

### 3.1.3. Descriptores locales condensados

Los descriptores locales y específicamente la función de Fukui, tal y como aparece en las fórmulas anteriores nos sirve como indicador de reactividad molecular, el cual varía con respecto al espacio molecular punto por punto. Debido a que en química nos interesa saber cual punto en el espacio molecular es más reactivo, se introduce otro concepto nuevo que identifica la función de Fukui con respecto a los átomos en moléculas y no a puntos en el espacio. Esta nueva función se llama función de Fukui atómica, que la misma al integrarla dará origen a la función de Fukui condensada a átomos.

Para poder entender como se calcula una función de Fukui atómica primeramente se debe definir un átomo en una molécula. Este concepto es clave y la herramienta matemática usada para delimitar o particionar el espacio molecular tridimensional

sería la función de peso  $w_A(r, N)$ .

Una función de densidad de átomos en moléculas (AIM) para el átomo A  $\rho_A(r, N)$  es obtenida de la densidad molecular  $\rho(r, N)$  de la siguiente forma:

$$\rho_A(r, N) = w_A(r, N)\rho(r, N) \quad (3-20)$$

las funciones de peso  $w_A(r, N)$  para todos los átomos siempre suman la unidad,

$$\sum_A^M w_A(r, N) = 1. \quad (3-21)$$

Se debe tomar en cuenta que las funciones de peso en general también dependen del número de electrones contenidos en la molécula. Es decir, en general, las funciones de peso serán diferentes si la molécula tiene  $N$ ,  $N - dN$ , o  $N + dN$  electrones, aun si la geometría es la misma.

Basados en la metodología de átomos en moléculas (AIM), se puede definir la función de peso utilizando un método que toma en cuenta el espacio cartesiano (espacio real y no de Hilbert) que fue sugerido por Hirshfeld.<sup>28</sup> La idea es que AIM no tiene límites agudos. En su lugar, la densidad electrónica en cada punto es distribuida entre todos los átomos.

El método de Hirshfeld clásico el cual se basa en la función de peso dada por

$$w_A^H(r) = \frac{\rho_{A,Z_A}^0(r)}{\sum_{A=1}^M \rho_{A,Z_A}^0(r)} \quad (3-22)$$

donde  $\rho_A^0(r, Z_A)$  es la densidad del átomo aislado para el átomo A. La densidad promolecular para la molécula con M átomos  $\rho^0(r) = \sum_{A=1}^M \rho_{A,Z_A}^0(r)$  es obtenida por simple superposición de las densidades de los átomos aislados en la geometría promolecular. A pesar de ser popular dentro del llamado DFT conceptual, el mismo posee

ciertas fallas como: Las cargas atómicas de Hirshfeld tienden a cero, esto es debido a que el factor de peso hace que los AIM sean muy similares a los átomos aislados. También se tiene que las poblaciones AIM de Hirshfeld dependen en la selección de la densidad promolecular, la densidad promolecular es usualmente aquella obtenida por la superposición de densidades atómicas calculadas para átomos neutros, lo cual no tiene una base teórica estricta. El subíndice  $Z_A$  es usado para indicar que la densidad atómica usualmente integra sobre el número atómico,

$$Z_A = \int \rho_{A,Z_A}^0(r) dr \quad (3-23)$$

Esto significa que la densidad promolecular es siempre la misma, independientemente del número de electrones que contenga la molécula.

Para resolver todos estos problemas se diseñó un método autoconsistente llamado Hirshfeld-I donde la función de peso se expresa como

$$w_A^{H-I}(r, N) = \frac{\rho_{A,N_A}^0(r)}{\sum_{A=1}^M \rho_{A,N_A}^0(r)}. \quad (3-24)$$

En este caso las densidades atómicas usadas para construir la promolécula integran sobre la población  $N_A$  como aparecen en la molécula. Como el número de electrones en los AIM depende del número total de electrones en la molécula, las funciones de peso se vuelven dependientes del número de electrones.

En este estudio se usó el método de Hirshfeld-I, el cual tiene como ventaja que la densidad promolecular y factor de peso son dependientes del número de electrones, con lo cual se evita un error de cálculo. El mismo método no depende de la función base usada y reproduce el potencial electrostático.

En el enfoque FMO como se trató anteriormente en las ec. 3-14 y 3-15, se toma en cuenta las densidades del HOMO y LUMO y luego se le aplica la función de peso

para calcular la respectiva función de Fukui atómica, que luego se integrará para dar la función condensada a átomos, como se muestra por ejemplo en la ecuación 3-27.

Para el cálculo de las funciones de Fukui condensadas se siguen dos métodos en cuanto a como aplicar la respectiva función de peso. La primera metodología de "fragmento de respuesta molecular" (en inglés FMR), consiste en que primero se calcula la respuesta molecular de la función de densidad y luego esta se distribuye con el método AIM. Esta es opuesta a la segunda aproximación, que se basa en la respuesta de un fragmento molecular" (en inglés RMF) a la perturbación, en la cual se opta por dividir primero la función de densidad en contribuciones atómicas y luego realizar las otras derivaciones matemáticas. La diferencia entre ambas aproximaciones (FMR) y (RMF) se basa en la ubicación de la función de peso como se muestra en la siguiente ecuación,

$$\left( \frac{\partial w_A(r, N) \rho(r, N)}{\partial N} \right)_{\text{next}} \neq \left( w_A(r, N) \frac{\partial \rho(r, N)}{\partial N} \right)_{\text{next}} \quad (3-25)$$

La función de Fukui condensada a átomo  $A$  para el modelo de energía lineal usando el método de fragmento de respuesta molecular (FMR)<sup>68-71</sup> se obtiene como:

$$f_A^{\pm \text{FMR}} = \int w_A(\mathbf{r}, N) f^{\pm}(\mathbf{r}) d\mathbf{r} \quad (3-26)$$

y el descriptor local condensado del modelo de energía cuadrático como:

$$l_{A;\omega;N}^{\text{FMR}} = \int w_A(\mathbf{r}, N) l_{\omega;N}(\mathbf{r}) d\mathbf{r} \quad (3-27)$$

El método de respuesta de fragmento molecular (RMF)<sup>68</sup> fue también evaluado,

donde la densidad electrónica esta condensada en poblaciones atómicas,

$$N_A = \int w_A(\mathbf{r}) \rho(\mathbf{r}) d\mathbf{r} \quad (3-28)$$

y la dependencia de la función de peso con el número total de electrones de la molécula esta considerado por la siguiente expresión:

$$f_A^{+\text{RMF}} = \int w_A(N+1, \mathbf{r}) \rho(N+1, \mathbf{r}) - w_A(N, \mathbf{r}) \rho(N, \mathbf{r}) d\mathbf{r} \quad (3-29)$$

y,

$$f_A^{-\text{RMF}} = \int w_A(N, \mathbf{r}) \rho(N, \mathbf{r}) - w_A(N-1, \mathbf{r}) \rho(N-1, \mathbf{r}) d\mathbf{r} \quad (3-30)$$

Para comparar cada uno de los valores condensados atómicos de la función de Fukui (FMR y RMF) alternativamente también se calculó la blandura local lineal condensada en base a la blandura global (modelo de energía cuadrático) definido como:<sup>72-74</sup>

$$s_A^\pm = S f_A^\pm = \frac{1}{\eta} f_A^\pm. \quad (3-31)$$

La blandura local condensada puede ser interpretada como una función de Fukui escalada, la cual sumada con respecto a todos los átomos da la blandura global de la molécula, en contraste con la función de Fukui que esta normalizada a 1. La blandura local fue propuesta para ser más apropiada para la comparación de reactividades locales entre moléculas debido a que toma la blandura global entre moléculas en consideración.<sup>72-74</sup>

## 3.2. Descripción electrónica del sistema de estudio

### 3.2.1. Mecánica Cuántica

La química cuántica esta basada en la mecánica cuántica y en la misma se han desarrollado métodos de primeros principios (ab initio), que tienen como punto de partida la solución de la ecuación Schrödinger no-relativista independiente del tiempo:

$$H|\psi\rangle = E|\psi\rangle \quad (3-32)$$

Donde H es el operador Hamiltoniano,  $\psi$  es la función onda y E es la energía del sistema. Para un sistema de N-electrones y M-núcleos, H se expresa como:

$$H = -\frac{1}{2} \sum_{i=1}^N \nabla_i^2 - \sum_{A=1}^M \frac{1}{2M_A} \nabla_A^2 - \sum_{i=1}^N \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum_{i=1}^N \sum_{j>i}^M \frac{1}{r_{ij}} + \sum_{A=1}^M \sum_{B>A}^M \frac{Z_A Z_B}{R_{AB}} \quad (3-33)$$

El primero y segundo términos son la energía cinética de los electrones y de los núcleos, respectivamente. El tercer término es la energía de atracción electrón-núcleo, y los términos restantes corresponden las repulsiones electrón-electrón y núcleo-núcleo.

La solución para la ec. 3-33 es conocida para el átomo de hidrógeno y el ión de la molécula hidrógeno ( $H_2^+$ ), para los que se conoce la energía exacta en el estado fundamental y todos los estados excitados. La solución para sistemas polieletrónicos sólo es posible mediante una serie de aproximaciones.

La primera aproximación que se utiliza para la solución de la ecuación de Schrödinger en sistemas polieletrónicos es la aproximación de Born-Oppenheimer, la cual

considera los núcleos fijos y el Hamiltoniano se puede escribir como:

$$H = H_e + H_n \quad (3-34)$$

Donde la energía cinética de los núcleos se desprecia y las repulsiones entre los núcleos se consideran constantes. Así, el hamiltoniano describe el movimiento de los N-electrones alrededor de cargas nucleares puntuales fijas, y se expresa como:

$$H_e = -\frac{1}{2} \sum_{i=1}^N \nabla_i^2 + \sum_{i=1}^N \sum_{j>i}^M \frac{1}{r_{ij}} - \sum_{i=1}^N \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{r_{iA}} \quad (3-35)$$

La función de onda electrónica  $\psi_e$  debe cumplir con un postulado independiente de la mecánica cuántica llamado Principio de Antisimetría o Principio de Exclusión de Pauli. Este principio establece que la función de onda N-electrónica  $\psi(x)$ , donde  $x=r, \omega$ , debe ser antisimétrica con respecto al intercambio de la coordenada  $x$  de dos electrones, es decir, depende de las coordenadas espaciales de los electrones  $x(r)$  y las coordenadas de espín  $x(\omega)$ :

$$\psi(x_1, \dots, x_i, \dots, x_j, \dots, x_N) = -\psi(x_1, \dots, x_j, \dots, x_i, \dots, x_N) \quad (3-36)$$

La función  $\psi_x$  se conoce como orbital espín, y es el producto de cada función orbital espacial  $\psi_i(r)$  por la función espín  $\alpha(\omega)$  o  $\beta(\omega)$ , donde  $\omega = (+\frac{1}{2}, -\frac{1}{2})$ . La función de onda  $\psi$ , para que tenga sentido físico, debe ser una función continua, doblemente diferenciable, cuadráticamente integrable y anularse en el infinito.

Otra de las aproximaciones usadas es la de Hartree-Fock (HF), la misma constituye la parte central de los métodos actuales y es el primer paso hacia aproximaciones más exactas. Se fundamenta en que la función de onda total puede expresarse como un producto antisimétrico de funciones de onda mono-electrónicas, en donde se incluyen

las coordenadas de espín de todos los electrones. En este contexto, la función de onda total es antisimétrica y satisface el principio de exclusión de Pauli, y la misma describe el estado fundamental de un sistema de  $N$  electrones y  $M$  núcleos. Esta función se expresa como un simple determinante que lleva el nombre de determinante de Slater.

El problema se centra en encontrar el mejor conjunto de funciones orbital espín que describen el estado fundamental. De acuerdo al principio variacional este conjunto de funciones es aquel que minimice la energía electrónica del sistema. Para encontrar dichas funciones se utiliza el método del campo autoconsistente (SCF).

Las ecuaciones HF se resuelven mediante la introducción en la ecuación siguiente

$$F(1)|\chi_a\rangle = \varepsilon_a|\chi_a\rangle \quad (3-37)$$

, donde  $F(1)$  es el operador de Fock.

de un conjunto base de funciones atómicas, y transformando las ecuaciones diferenciales en un conjunto de ecuaciones algebraicas en forma matricial. Este procedimiento es conocido como aproximación de Roothaan-Hall y considera que los orbitales moleculares (OM) forman un conjunto ortogonal de funciones de onda mono-electrónicas.

En el modelo de Roothaan-Hall, los OM se expresan como un desarrollo lineal de un conjunto finito de funciones no ortogonales (orbitales atómicos,  $\phi_u$ ). Este esquema se conoce como combinación lineal de orbitales atómicos (CLOA), donde  $\psi_i$  se expresa como una expansión lineal de la forma:

$$\psi_i = \sum_u C_{ui}\phi_u \quad (3-38)$$

### 3.2.2. Teoría del funcional de la densidad

Primeramente se menciona de forma resumida nociones básicas de lo que es la correlación electrónica, para luego tocar el tema de la Teoría del funcional de la densidad.

La energía de correlación electrónica  $E_c$  es definida como la diferencia entre la energía no relativística exacta y la energía de Hartree-Fock (HF):

$$E_c = E_0 - E_{HF} \quad (3-39)$$

lo cual implica que la energía  $E_c$  es siempre una cantidad negativa. Una definición matemática de la energía de correlación involucra tanto la función de onda exacta de un sistema de muchos electrones en el  $i$ -estado  $\phi_i$  así como la función de onda de corrección  $\phi_{ic}$ , resultando:

$$\psi_i = \phi_i + \phi_{ic} \quad (3-40)$$

Después de aplicar la condición de normalización y el hamiltoniano expresado en la ec. (3-36) sobre  $\psi_i$ , encontramos que la energía del sistema viene dada por,

$$E_i = E_{i,referencia} + E_{i,correlacion} \quad (3-41)$$

Donde  $E_{i,referencia}$  es la energía de Hartree-Fock, según la definición de Löwdin.<sup>75</sup> El efecto de la correlación es una consecuencia de la deficiencia del modelo Hartree-Fock al presentarse el hecho de que dos electrones con espines opuestos no se le permite ocupar simultáneamente la misma región del espacio, ya que la interacción coulombica ( $1/r_{ij}$ ) entre los electrones  $i$  y  $j$  tiende a infinito. El valor relativo de la energía  $E_c$  es aproximadamente 1 % de la energía SCF. Los efectos de la correla-

ción son muy importantes cuando se estudian disociaciones moleculares y cuando se determinan propiedades electrónicas dependientes de la densidad electrónica.

La teoría del funcional de la densidad (DFT)<sup>6</sup> representa una forma alternativa de introducir los efectos de la correlación electrónica en la resolución de la ecuación de Schrödinger electrónica. De acuerdo con la DFT, la energía del estado fundamental de un sistema polielectrónico puede expresarse a partir de la densidad electrónica en lugar de la función de onda para el cálculo de la energía del sistema. Sin embargo, la fórmula matemática exacta que relaciona la energía con la densidad electrónica no es conocida, y es necesario recurrir a expresiones aproximadas como son los funcionales que en la práctica se ha comprobado que dan buenos resultados. De esta forma se puede abordar el cálculo de estructura electrónica para sistemas moleculares de gran tamaño. También tiene la ventaja que solamente depende de 3 coordenadas espaciales a diferencia de la función de onda que depende de  $3n$  coordenadas espaciales donde  $n$  representa el número de electrones. Además, la densidad electrónica es un observable que se puede comprender más fácilmente.

La base teórica de la DFT se basa en dos teoremas, el primero que fue dado por Hohenberg y Kohn en 1964<sup>76</sup> se enuncia: "Cualquier observable de un estado estacionario fundamental no degenerado puede ser calculado, en principio de forma exacta, a partir de la densidad electrónica de este estado fundamental, esto es, cualquier observable puede escribirse como funcional de la densidad electrónica del estado fundamental."

Para los casos en que este teorema es válido se tiene que :

$$E[\rho] = T[\rho] + V_{Ne}[\rho] + V_{ee}[\rho] (+V_{NN}) \quad (3-42)$$

$T[\rho]$  y  $V_{ee}[\rho]$  son funcionales universales, dado que no dependen del potencial

externo. Estos se engloban dentro del funcional  $F_{HK}[\rho]$  obteniéndose:

$$E_v[\rho] = \int v(r)\rho(r)dr + F_{HK}[\rho] \quad (3-43)$$

,donde  $E_v[\rho]$  indica que para un potencial externo  $v(r)$  determinado, la energía es un funcional de la densidad.

El segundo teorema Hohenberg y Kohn proporciona el principio variacional para  $E[\rho]$ . y se enuncia así: “ La densidad electrónica de una estado fundamental no-degenerado puede ser calculada, en principio de forma exacta, determinando aquella densidad que minimiza la energía del estado fundamental.”

El principio variacional asegura que cualquier densidad de prueba da una energía superior o igual a la energía exacta del estado fundamental. Así para obtener la densidad exacta del estado fundamental, se tendrá que encontrar la densidad que minimiza la energía :

$$\left[ \frac{\partial E_v[\rho]}{\partial \rho} \right] = 0 \quad (3-44)$$

La siguiente ecuación recibe el nombre de ecuación fundamental de la teoría del funcional de la densidad:

$$\mu = \frac{\partial E_v[\rho]}{\partial \rho} = v_n(r) + \frac{\partial F_{HK}[\rho]}{\partial \rho(r)} \quad (3-45)$$

De esta forma esta ecuación permite minimizar la energía y determinar así la densidad del estado fundamental. El problema que presenta es que no se conoce con exactitud la expresión que relaciona  $F_{HK}$  con la densidad. En particular la forma exacta de  $T[\rho]$  no se conoce con suficiente precisión. Por el contrario, la energía cinética se calcula fácilmente si se conoce la  $\psi$ . Basandose en la expresión de  $T[\psi]$

para una función monodeterminantal, Kohn y Sham propusieron un método para calcular la energía a partir de la densidad electrónica.

### Método de Kohn-Sham

A partir de este método, Kohn y Sham presentaron una forma de aproximar al funcional universal  $F_\rho$ . Para ello utilizaron como sistema de referencia un sistema de  $N$  electrones que no interactúan entre ellos moviéndose bajo un potencial externo  $v_s(r)$ . Este potencial posee la propiedad de que aplicado al sistema genera una función de onda  $\psi_s$ , que tiene la misma densidad que la del sistema real. En este sistema los electrones no interactúan entre ellos aunque si presentan interacciones coulómbicas con los núcleos. En este caso el sistema está representado por un determinante de Slater cuyos elementos son funciones que representan a cada uno de los electrones del sistema (orbitales  $\phi_i$ ), de esta forma la energía cinética corresponde a una suma de energías cinéticas individuales

$$T_s[\rho] = -\frac{1}{2} \sum_i^n \langle \phi_i(r) | \nabla^2 | \phi_i(r) \rangle, \quad (3-46)$$

y la densidad electrónica es la suma de densidades orbitales

$$\rho(r) = \sum_i^n |\phi_i(r)|^2 \quad (3-47)$$

otro aspecto importante sería la aproximación a la interacción electrón-electrón en la cual se propone como parte principal a la interacción coulómbica:

$$J[\rho] = \frac{1}{2} \int \int \frac{\rho(r)\rho(r')}{|r-r'|} dr dr' \quad (3-48)$$

de esta forma el funcional universal queda como:

$$F[\rho] + T[\rho] + V_{ee}[\rho] = T_s[\rho] + J[\rho] + E_{xc}[\rho] \quad (3-49)$$

, donde el funcional de intercambio y correlación,  $E_{xc}[\rho]$  se define como:

$$E_{xc}[\rho] = (T[\rho] - T_s[\rho]) + (V_{ee}[\rho] - J[\rho]). \quad (3-50)$$

Así se podría decir que los orbitales de Kohn-Sham son aquellos que satisfacen las ecuaciones siguientes:

$$\left[ -\frac{1}{2} \nabla^2 + v_{eff} \right] \phi_i(r) = \varepsilon_i \phi_i(r) \quad (3-51)$$

, donde  $v_{eff} = v(r) + v_J(r) + v_{xc}(r)$ , teniendo que  $v(r)$  corresponde al potencial atractivo generado por los núcleos sobre los electrones,  $v_J(r)$  es el potencial coulombico electrón-electrón y  $v_{xc}(r)$  es el potencial de intercambio-correlación.

Luego de resolver esta ecuación se obtienen los valores de  $\phi_i(r)$  que proporcionan la densidad electrónica. La resolución de la misma se realiza de forma iterativa y autoconsistente como en el método de Hartree-Fock, debido a que las soluciones de  $\phi_i(r)$  vienen determinadas por el potencial  $v_{eff}$  y este depende implícitamente de los valores de  $\phi_i(r)$  a través de su relación con la densidad.

En teoría el planteamiento de Kohn y Sham es exacto pero el problema es que se desconoce actualmente la forma de obtener la expresión exacta del funcional de intercambio-correlación. De esta forma se hace uso de aproximaciones como lo son la aproximación de densidad local (LDA),<sup>77</sup> aproximaciones de gradiente generalizado (GGA).<sup>78</sup> Entre algunos de los funcionales, se encuentran los funcionales puros como por ejemplo BLYP y funcionales híbridos, como el popular B3LYP que incluye un funcional de correlación de Lee-Yang-Parr<sup>79</sup> y funcional de tres parámetros de

Becke.<sup>80</sup>

### 3.3. Dinámica molecular

Es un método determinista en el cual las posiciones atómicas se ajustan de modo secuencial mediante el empleo de las ecuaciones de movimiento de Newton. La integración de estas ecuaciones con el tiempo permite construir una trayectoria de puntos en el espacio de fase  $(r^N(t), p^N(t))$ . Se dice que es determinista debido a que el estado futuro del sistema puede ser predicho a partir del estado actual.

La dinámica molecular empieza definiéndose las posiciones iniciales,  $r^N$ , y las velocidades o momentos lineales iniciales,  $p^N$ , de todas las partículas del sistema. Conociendo esta configuración inicial se puede calcular la fuerza sobre cada partícula mediante la siguiente expresión:

$$F_i(r^N) = - \nabla_i E(r^N) \quad (3-52)$$

donde  $F_i$  es la fuerza que actúa sobre la partícula  $i$  y  $E(r^N)$  es la energía potencial. De esta forma en las simulaciones de dinámica molecular se requiere conocer la energía potencial del sistema para poder calcular la fuerza que actúa sobre cada átomo. Este valor puede ser obtenido mediante métodos de estructura electrónica como métodos ab initio o DFT o usando mecánica molecular como los campos de fuerza.

La trayectoria de las partículas se obtienen al resolver la ecuación de la segunda ley de Newton,

$$\frac{\partial^2 r_i}{\partial t^2} = \frac{F_i}{m_i} \quad (3-53)$$

Debido a que los potenciales de interacción son continuos y la fuerza que actúa sobre cada átomo, la misma cambiará cuando el átomo cambie de posición o cuando cualquier otro átomo lo haga. Este acoplamiento lleva a que la integración de las ecuaciones de movimiento se integran en intervalos de tiempo muy cortos,  $\Delta t$  del orden de femtosegundos ( $1\text{fs} = 10^{-15}\text{s}$ ). Para cada tiempo  $t$  se determina la fuerza en cada átomo producto de la interacción con los demás átomos. Así se calculan las fuerzas sobre todas las partículas y se combinan con la posición y velocidad actuales para generar las mismas a un tiempo  $t + \Delta t$ . La forma más simple de integración numérica es usando una serie de Taylor. En este método la posición del átomo a un tiempo  $t + \Delta t$  es expresado en términos de la posición, velocidad y aceleración a tiempo  $t$  como sigue:

$$r(t + \Delta t) \approx r_i(t) + \frac{\partial r}{\partial t} \Delta t + \frac{1}{2} \frac{\partial^2 r}{\partial t^2} (\Delta t)^2 + \dots \quad (3-54)$$

las velocidades  $v_i$  son las primeras derivadas de la posición con respecto al tiempo, la aceleración son las segundas derivadas con respecto al tiempo. Uno de los algoritmos de integración mas utilizados es el Verlet<sup>81</sup> que trunca la serie en el segundo orden,

$$r_{i+1} = (2r_i - r_{i-1}) + a_i(\Delta t)^2 + \dots \quad (3-55)$$

donde  $a$  es la aceleración. Este algoritmo es bastante estable pero tiene la desventaja del redondeo numérico que se genera debido a que para obtener la nueva posición hay que sumar una cantidad pequeña,  $a_i(\Delta t)^2$  a la diferencia de posiciones ( $2r_i - r_{i-1}$ ). Los inconvenientes de este algoritmo pueden ser remediados por el algoritmo "salto de rana" (en inglés leap-frog),<sup>82</sup> el cual se expresa con la siguiente ecuación:

$$\begin{aligned} r(t + \Delta t) &= r(t) + v\left(t + \frac{\Delta t}{2}\right)\Delta t \\ v\left(t + \frac{\Delta t}{2}\right) &= v\left(t - \frac{\Delta t}{2}\right) + a(t)\Delta t \end{aligned} \quad (3-56)$$

en las cuales se calculan las velocidades a la mitad del intervalo de integración y se utilizan para calcular las nuevas posiciones. Una de las ventajas sobre el algoritmo Verlet es que la velocidad se calcula explícitamente y que la posición no se calcula como diferencia entre dos cantidades grandes.

### 3.3.1. Métodos QM-MM

En la dinámica molecular, se simula la evolución temporal del sistema mediante la integración de las ecuaciones Newtonianas del movimiento. El nivel de teoría empleado es determinado por la función de energía potencial que rige el sistema, y se elige dependiendo del fenómeno que se quiera estudiar. Los niveles de teoría se clasifican en: métodos de mecánica cuántica (QM) y de mecánica clásica o mecánica molecular (MM). En los métodos QM, el sistema se define a nivel electrónico, y la energía potencial se calcula mediante la resolución (aproximada) de la ecuación de Schrödinger o de las ecuaciones de Kohn-Sham en el caso de DFT o también se pueden incluir los métodos semi-empíricos; en los métodos MM el sistema se define mediante átomos indivisibles, en los cuales la función de energía potencial se calcula a partir de funciones matemáticas dependientes de la posición relativa de los átomos que debe ser previamente parametrizado empíricamente o mediante cálculos realizados a un nivel teórico superior. Estas funciones matemáticas junto a sus parámetros forman un campo de fuerza.

La precisión de los resultados (la estructura electrónica/atómica, las energías de

interacción, los estados de transición,...) así como el nivel de información sobre el sistema depende del nivel de teoría empleado. Pero al mismo tiempo, el coste computacional para resolver la función de energía potencial depende del nivel de teoría, de manera que, el tamaño del sistema y el número de pasos de integración que se puede calcular con un método QM es mucho menor que el que se puede calcular con un método MM. Por otro lado si se quiere describir cambios importantes en la estructura electrónica del sistema, como la rotura y la formación de enlaces covalentes se debe utilizar métodos QM que describan de forma cuántica el sistema de estudio.

Para la descripción correcta de un sistema biológico se deben calcular las posiciones de miles de átomos. Sin embargo, estas macromoléculas vibran, giran y rotan en una escala de tiempo de los femto a picosegundos. Las distancias y ángulos de enlaces se mueven alrededor de sus correspondientes valores de equilibrio. El tamaño y complejidad de estos sistemas con un elevado número de átomos hacen necesario el uso de la mecánica molecular para la descripción de las interacciones entre los átomos constituyentes del sistema.

Para poder describir cambios en la estructura electrónica en estos sistemas se utilizan simulaciones de dinámica molecular QM/MM mediante dinámica molecular de Born-Oppenheimer (BOMD), en la cual se calcula la función de onda a cada paso de integración. El método QM/MM se caracteriza por la partición del sistema en i) una “región QM” que corresponde a la parte químicamente relevante y que se trata mediante un método basado en la mecánica cuántica y ii) una “región MM” que incluye el resto del sistema y que se describe mediante un método de mecánica molecular. El cálculo QM/MM se define por los métodos QM y MM empleados, por cómo se combinan los Hamiltonianos (según si es por acoplamiento mecánico o electrónico) y por la forma de tratar la interfase entre las regiones QM y MM.

Para calcular la energía y las fuerzas de cada átomo del sistema se construye un Hamiltoniano efectivo,  $H_{eff}$  y se resuelve la ecuación de Schrödinger independiente del tiempo para la energía del sistema,  $E$  y la función de onda de los electrones de los átomos QM,  $\Psi$ :

$$H_{eff}\Psi(r, R_\alpha, R_M) = E(R_\alpha, R_M)\Psi(r, R_\alpha, R_M) \quad (3-57)$$

la función de onda es una función de coordenadas de los electrones  $r$  y depende de las posiciones de los núcleos mecanocuánticos  $R_\alpha$  y de los átomos MM  $R_M$ . La energía se calcula para cada geometría de los núcleos QM y de los átomos MM y se obtiene la fuerza sobre cada núcleo en el sistema.

La energía se obtiene a partir de la función de onda:

$$E = \frac{\langle \Psi | H_{eff} | \Psi \rangle}{\Psi | \Psi} \quad (3-58)$$

y el hamiltoniano efectivo para el sistema total se puede escribir como la suma de 3 términos:

$$H_{eff} = H_{QM} + H_{MM} + H_{QM-MM} \quad (3-59)$$

El primer término que describe la ecuación anterior es el hamiltoniano que describe las partículas mecanocuánticas (electrones y núcleos) del sistema y sus interacciones. Es un hamiltoniano no relativista y en unidades atómicas se escribe como:

$$H_{QM} = -\frac{1}{2} \sum \nabla_i^2 + \sum_{ij} \frac{1}{r_{ij}} - \sum_{i\alpha} \frac{Z_\alpha}{r_{i\alpha}} + \sum_{\alpha\beta} \frac{Z_\alpha Z_\beta}{R_{\alpha\beta}} \quad (3-60)$$

donde  $i, j$  y  $\alpha$  y  $\beta$  indican las coordenadas electrónicas y nucleares respectivamente,  $r$  es la distancia electrón/electrón, y  $Z_\alpha$  es la carga nuclear. La parte MM del hamil-

toniano,  $H_{MM}$ , describe la región MM. El hamiltoniano que describe la interacción entre los átomos QM y MM viene dado por  $H_{QM/MM}$ .

El hamiltoniano MM es función de las posiciones de los átomos tratados mediante mecánica clásica. No depende de las coordenadas de los electrones y núcleos de los átomos QM, y por tanto coincide con un número:

$$H_{MM}(R_M) = E_{MM}(R_M) \quad (3-61)$$

Por ello para calcular la energía MM se utiliza un campo de fuerza MM estándar. Los átomos MM se representan como cargas parciales y se utiliza el potencial de Lennard-Jones para describir la interacción a larga distancia de estos átomos. Cuando interaccionan a corta distancia se describen con funciones matemáticas que describen variaciones de energía por cambios en enlaces, ángulos y ángulos diedros parametrizados con constantes de fuerza armónicas que determinan la conectividad de la molécula.

El hamiltoniano  $H_{QM/MM}$  describe como interaccionan los átomos QM con los MM. Como los átomos MM se representan por cargas puntuales y parámetros de van der Waals el hamiltoniano de interacción mas simple puede escribirse como:

$$H_{QM/MM} = - \sum_{iM} \frac{q_M}{r_{iM}} + \sum_{\alpha M} \frac{Z_\alpha q_M}{R_{\alpha M}} + \sum_{\alpha M} \left\{ \frac{A_{\alpha M}}{R_{\alpha M}^{12}} - \frac{B_{\alpha M}}{R_{\alpha M}^6} \right\} \quad (3-62)$$

donde los subíndices "i" hacen referencia a los electrones de los átomos QM, los subíndices "α" a los núcleos de los átomos QM y los subíndices "M" a los átomos MM. El primer término de la ecuación 3-62 representa las interacciones electrostáticas entre los átomos MM y los electrones de los átomos QM. El segundo término representa las interacciones electrostáticas entre los átomos MM y los núcleos de los átomos QM. El tercer término describe las interacciones de van der Waals. Los dos

últimos términos de la ecuación 3-62 son constantes, ya que no incluyen coordenadas electrónicas, de modo que pueden ser calculadas y sumadas directamente a la energía total. Sin embargo, el primer término incluye coordenadas electrónicas por lo que debe tratarse en el procedimiento de campo autoconsistente (SCF).

La energía total es la suma de los valores de cada término en el hamiltoniano:

$$E = E_{QM} + E_{MM} + E_{QM/MM} \quad (3-63)$$

Como la función de onda solo depende paraméricamente de  $R_M$ , el término  $E_{MM}$  puede salir de la integral en la ecuación siguiente:

$$E = \frac{\langle \Psi | H_{QM} + H_{QM/MM} | \Psi \rangle}{\langle \Psi | \Psi \rangle} + E_{MM} \quad (3-64)$$

### 3.3.2. Campo de fuerza

El uso de campos de fuerza para la descripción del sistema de estudio es aconsejable cuando se trabaja con sistemas de gran tamaño como proteínas, etc. en la cual se hace uso de la mecánica molecular para la descripción del mismo. La mecánica molecular modela las estructuras químicas mediante el uso de un campo de fuerza el cual esta caracterizado por un conjunto de ecuaciones que definen la variación de la energía potencial de las moléculas según la posición de los átomos. Estos campos de fuerza contienen una gran cantidad de parámetros como por ejemplo: longitudes de enlace, ángulos y constantes de fuerzas, entre otros. Cuando se utiliza un campo de fuerza los electrones no son tratados explícitamente en este tipo de metodología, pero si se incluyen los efectos electrónicos mediante los parámetros del campo de fuerza.

En un campo de fuerza la energía potencial del sistema se puede separar en dos contribuciones mediante la siguiente expresión:

$$E_{sist} = E_{\text{términos enlazantes}} + E_{\text{términos no enlazantes}} \quad (3-65)$$

el término  $E_{\text{términos enlazantes}}$  da cuenta de la energía de interacción entre átomos enlazados e incluye las contribuciones debidas a los enlaces covalentes, los ángulos de enlace y las torsiones propias e impropias. El término  $E_{\text{términos no enlazantes}}$  describe la energía de interacción entre los átomos no enlazados y se define por un término de Coulomb para las interacciones electrostáticas y un término de Lennard-Jones para las fuerzas de van der Waals.

Todas las contribuciones mencionadas anteriormente involucran un proceso de parametrización, debido a que las expresiones matemáticas de las mismas dependen de ciertas constantes para su uso. El origen de estos datos usados en el proceso de parametrización se puede dividir fundamentalmente en dos tipos: los campos de fuerza experimentales, en los cuales las constantes de fuerza de la expresión de energía provienen de medidas experimentales y los campos de fuerza mecano cuánticos, derivados a partir de parámetros fundamentalmente *ab initio*.

Una de las limitaciones mas importantes es que debido a su componente fundamental clásico no permite abordar la resolución de problemas que tengan un carácter marcado cuántico como por ejemplo : el estudio de estados excitados o de sistemas en que se formen o rompan enlaces. En estos casos es aconsejable delimitar la zona mas importante y estudiarla de forma cuántica o hacer uso de métodos híbridos QM/MM.

### 3.3.3. Termostato de Langevin

En este trabajo se realizaron las simulaciones de dinámica molecular a NVT constante (colectivo canónico). Por esta razón se requiere mantener la temperatura cons-

tante, lo cual se logró mediante el uso de un termostato, específicamente el termostato usado fue el basado en la ecuación de Langevin. El mismo tiene su fundamento en ecuaciones de Newton modificadas, donde cada partícula o átomo  $i$  se mueve como si estuviese inmerso en un baño de muchas partículas pequeñas, de esta forma la ecuación de Langevin se expresa como:

$$m_i a_i = F_i - m_i \gamma v_i + f_i \quad (3-66)$$

, donde  $F_i = \frac{\partial U(R)}{\partial r_i}$  es la fuerza que actúa en el átomo  $i$  debido al potencial de interacción,  $\gamma_i$  es el coeficiente de fricción y  $f_i$  es una fuerza aleatoria con dispersión  $\sigma$  relacionada con el coeficiente de dispersión  $\gamma_i$  de la siguiente forma:

$$\sigma_i^2 = 2m_i \gamma_i k_B T / \Delta(t) \quad (3-67)$$

siendo  $T$  la temperatura,  $k_B$  la constante de Boltzmann y  $\Delta(t)$  el tiempo de paso usado en la simulación de dinámica molecular para integrar las ecuaciones de movimiento.

### 3.3.4. Método de Umbrella Sampling

El método de Umbrella sampling<sup>83</sup> es una técnica computacional de cálculo de energía libre en la cual se restringe el muestreo en una región específica del espacio de fase representada por ejemplo por una coordenada de reacción en la cual se le somete al sistema un potencial de restricción. La restricción se lleva a cabo mediante un potencial armónico de la forma:

$$W(f_1(r_1, \dots, r_N), s) = \frac{1}{2} k (f_1(r_1, \dots, r_N) - s)^2 \quad (3-68)$$

La ecuación anterior se adiciona a la energía potencial del sistema  $U(r)$ , de esta forma el potencial total es  $U(r) + W(f_1(r), s)$ . Este potencial se utiliza para mejorar el muestreo de cierta variable en regiones con baja probabilidad de ocurrencia.

### **3.4. Función de Fukui condensada atómica ponderada por la distribución de Boltzmann**

En esta sección se explica la nueva metodología desarrollada en este trabajo, en la cual se definen descriptores de reactividad aplicados a sistemas complejos como enzimas o solutos solvatados en agua explícita. Los mismos se basan en la aproximación de que la posición de los átomos o núcleos en los sistemas se desacopla de los grados de libertad electrónicos (aproximación de Born-Oppenheimer). Combinando simulaciones de dinámica molecular y métodos de muestreo mejorados, se obtienen todas las posiciones de átomos posibles en un colectivo canónico definido por el número de átomos  $N$ , el volumen  $V$  y la temperatura  $T$ . La energía potencial que describe las interacciones entre los átomos se obtiene con los hamiltonianos basados en métodos de estructura electrónica semiempírica o combinándolos con campos de fuerza en un enfoque QM/MM para sistemas más complejos.

Para cada configuración de los átomos, se estudió la reactividad del tioéster de crotonilo como modelo de sustrato enzimático con descriptores de reactividad local condensados por átomos basados en DFT conceptual. Se obtiene una reactividad representativa para el colectivo de configuraciones como promedio ponderado de Boltzmann de los valores condensados de átomos calculados, manteniendo constante el número de electrones del sustrato en diferentes entornos moleculares. Al comparar estos valores promedio ponderados de Boltzmann para cada átomo del sustrato, se

abordó el efecto de la enzima o las moléculas de solvente explícito sobre su reactividad.

La función de Fukui condensada por átomos descrita anteriormente adoptará diferentes valores dependiendo de la posición de los núcleos en el sistema molecular. Bajo temperatura constante  $T$  todas las posiciones posibles de  $N$  núcleos/átomos  $\mathbf{R}_N$ , en un volumen definido  $V$ , están representados por la función de partición canónica bajo una descripción clásica de los átomos

$$Q(N, V, T) = \frac{1}{\lambda^{3N}} \int_{D(v)} d\mathbf{R}_1 \dots d\mathbf{R}_N e^{-\beta U(\mathbf{R}_1, \dots, \mathbf{R}_N)} \quad (3-69)$$

Se suponen momentos y posiciones independientes de los átomos, la integración de los momentos está dada por  $\frac{1}{\lambda^{3N}}$ , y la integración se extiende sobre todo el volumen accesible por las posiciones de los átomos  $D(v)$ .  $U(\mathbf{R}_1, \dots, \mathbf{R}_N)$  es la energía potencial del sistema que describe las interacciones de los átomos en la posición  $\mathbf{R}_i$  y se obtiene a partir de cálculos de estructura electrónica ab-initio, de campos de fuerza adecuadamente parametrizados o mediante métodos híbridos como QM/MM, que describen la parte reactiva del sistema con métodos ab-initio, incluida la polarización de los átomos circundantes representados por cargas atómicas y el resto con campos de fuerza. Con esta metodología propuesta asumimos explícitamente que los electrones están en 0 K y están desacoplados de los grados de libertad nuclear.

En base a esta aproximación, una función de partición configuracional

$$Z(N, V, T) = \int_{D(v)} d\mathbf{R}_1 \dots d\mathbf{R}_N e^{-\beta U(\mathbf{R}_1, \dots, \mathbf{R}_N)} \quad (3-70)$$

es definida para obtener la diferencia de energía libre de Helmholtz  $\Delta A$  entre dos estados con el mismo número de átomos y funciones de partición configuracional,  $Z_i$  y  $Z_j$ , que difieren en las interacciones atómicas como

$$\Delta A_{i \rightarrow j} = -kT \ln \frac{Z_j}{Z_i} \quad (3-71)$$

La función de partición configuracional  $Z$  en mecánica estadística permite el cálculo de un observable del sistema como un promedio ponderado de la función correspondiente  $a(\mathbf{R}_1, \dots, \mathbf{R}_N)$ , que depende solo de la posición de los átomos  $\mathbf{R}_i$ .

Como se vió anteriormente la función de Fukui condensada por átomos depende solo de la posición de los núcleos, por ende teniendo en cuenta todas las configuraciones posibles en el colectivo se definió en este trabajo una función de Fukui condensada por átomos promediada por el colectivo

$$\langle f_A^+ \rangle = \frac{1}{Z(N, V, T)} \int_{D(v)} d\mathbf{R}_1 \dots d\mathbf{R}_N f_A^+(\mathbf{R}_1, \dots, \mathbf{R}_N) e^{-\beta U(\mathbf{R}_1, \dots, \mathbf{R}_N)} \quad (3-72)$$

con  $\beta = \frac{1}{k_B T}$ ,  $T$  es la temperatura y  $k_B$  constante de Boltzmann.  $f_A^+(\mathbf{R}_1, \dots, \mathbf{R}_N)$  es la función Fukui condensada por átomos obtenida en una configuración específica de núcleos dada por  $\mathbf{R}_i$ .

Para sistemas moleculares, el desafío consiste en encontrar métodos capaces de proveer una completa descripción del espacio de fase accesible dado por los núcleos. Como primer paso en esta dirección, primeramente se exploraron los diferentes grados de libertad configuracionales del tioester del crotonyl, el cual muestra variaciones a cierta temperatura en vacío y solvente implícito, representado por la rotación con respecto a un enlace simple usando metodos DFT (ver Figura 4-9). Los dos mínimos resultantes accesibles a cierta temperatura en la superficie de energía potencial (PES), sirven como puntos de partida para el estudio de la interconversión con el método de Umbrella Sampling en ambientes moleculares diferentes (descripción implícita y explícita del agua) combinado con el método Weighted Histogram Analysis Method (WHAM).<sup>84</sup> Todos los microestados caracterizados por las posicio-

nes atómicas de la molécula para cada ventana en el método Umbrella Sampling<sup>83</sup> fueron usados para obtener el valor de  $f_A^+$  promedio para cada átomo con respecto a cada valor del ángulo torsional. Luego la función de Fukui condensada ponderada por el colectivo fue obtenida usando los pesos de Boltzmann de cada ventana calculados por las diferencias de energía libre de las mismas. En solvente explícito y en la enzima, se produce una polarización de la densidad electrónica del tioéster de crotonilo debido a la inclusión de las cargas puntuales circundantes tomadas en cuenta en la metodología QM/MM. La densidad electrónica polarizada en las posiciones atómicas fijas  $R_N$  da como resultado valores de la función de Fukui condensada a átomos que describen el efecto polarizador del entorno molecular en el tioéster de crotonilo para diferentes configuraciones de los átomos en el sistema.

En la enzima, el sustrato tioéster de crotonilo está limitado por la interacción con los residuos de proteína y la fuerte unión de la porción de la coenzima A, por lo tanto se usaron simulaciones de dinámica molecular QM/MM con suficiente duración para muestrear las reorientaciones locales de los residuos interactuantes y las moléculas de agua con el objetivo de proporcionar una representación del espacio de fase accesible del sustrato.

La metodología propuesta en este trabajo,<sup>85</sup> para el cálculo de la función de Fukui condensada a átomos ponderada por la distribución de Boltzmann (en inglés BW-AC-FF) se puede dividir en los siguientes pasos (en orden secuencial):

- Primeramente se requiere realizar un estudio previo conformacional para saber los grados de libertad a considerar. (Ej: Rotación de un ángulo diedro). Este estudio se realizó con el programa ORCA.<sup>86</sup>
- A lo largo del diedro escogido se debe de encontrar los microestados accesibles del espacio de fase, en este caso relacionados con la coordenada de reacción (Se

considera un colectivo canónico).

- Para encontrar los microestados accesibles se utilizan simulaciones de dinámica molecular Born-Oppenheimer. Para mejorar el muestreo se utiliza el método de Umbrella Sampling y se divide en ventanas la coordenada de reacción. Luego se utiliza el método WHAM<sup>84</sup> para obtener la energía libre de cada ventana y probabilidades a nivel DFTB.<sup>87</sup> Para este paso se utilizó el programa AMBER.<sup>88</sup>
- A partir de las estructuras conseguidas anteriormente con nivel de teoría DFTB se realiza un recálculo usando el programa TERACHEM<sup>89</sup> para así obtener energías y coeficientes de orbitales moleculares a nivel DFT.
- Al tener las energías a nivel DFT de cada microestado se puede corregir la energía libre de cada ventana considerando la diferencia entre  $\langle E_{dft} \rangle - \langle E_{dftb} \rangle$  tomando en cuenta el factor entrópico constante (Solo para sistemas en vacío y solvente implícito).
- Teniendo los coeficientes de orbitales moleculares para cada microestado en cada ventana se procede a calcular los descriptores de reactividad con los programas HORTON<sup>90</sup> y CHEMTOOLS.<sup>91</sup>
- Una vez obtenido cada valor de descriptor de reactividad a lo largo de la coordenada de reacción se procede a calcular un promedio del mismo por ventana.
- Finalmente para obtener la propiedad ponderada por el factor de Boltzmann, que en este caso es la función de Fukui condensada(en inglés BW-AC-FF) se procede a hacer una sumatoria de cada promedio de función de Fukui obtenida por ventana multiplicada por su probabilidad respectiva.



**Figura 3-1.:** Flujograma para el cálculo de la Función de Fukui condensada atómica ponderada por la distribución de Boltzmann (BW-AC-FF)

A continuación se resume cada uno de los pasos mencionados anteriormente en un flujograma de la figura 3-1. Finalmente se debe de mencionar que se tuvo que diseñar una serie de programas computacionales en lenguaje PYTHON y BASH que sirvieran como interfase en la manipulación de los programas antes mencionados. También se diseñaron programas para el cálculo del promedio ponderado de la función de Fukui condensada atómica y en general para el tratamiento estadístico de otras variables como por ejemplo: puentes de hidrógeno, etc.

## 4. Resultados

### 4.1. Reactividad química de compuestos

#### $\alpha,\beta$ -insaturados en vacío y solvente implícito.

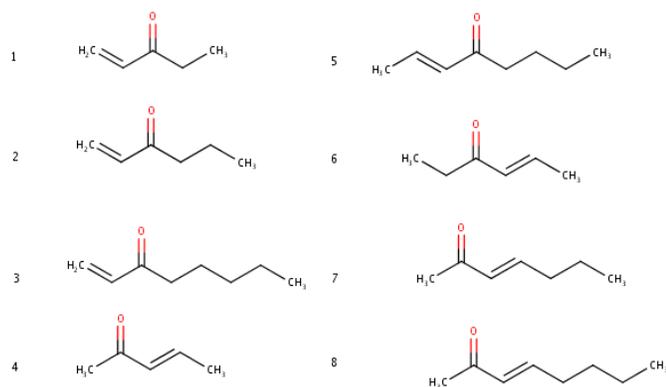
En esta primera sección se muestran los resultados obtenidos en el estudio de la reactividad en compuestos insaturados en medios isotrópicos como vacío y solvente implícito. Para este tipo de casos los sistemas moleculares se representaron por medio de geometrías optimizadas. La reactividad de tioesteres, amidas y esterres  $\alpha,\beta$ -insaturados fue abordada con descriptores de reactividad globales y locales basados en la teoría del funcional de la densidad conceptual. Debido a que no hay datos experimentales disponibles para estos compuestos, se tuvo que validar primeramente los descriptores de reactividad para una serie de cetonas  $\alpha,\beta$ -insaturadas con constantes de velocidad experimental conocidas.

#### 4.1.1. Validación de descriptores de reactividad para moléculas

##### $\alpha,\beta$ -insaturadas

Recientemente la validación de varios descriptores en compuestos carbonílicos con un solo sitio reactivo fue reportado por Heidar-Zadeh *et al.*<sup>63</sup> La mayoría de estos compuestos poseen solo un sitio nucleofílico, el átomo de carbono carbonilo. Las

moléculas  $\alpha,\beta$  insaturadas, sin embargo, tienen más de un sitio nucleofílico que requiere una nueva validación de los descriptores de reactividad.



**Figura 4-1.:** Cetonas  $\alpha,\beta$ -insaturadas electrofílicas usadas para validar los descriptores de reactividad globales y locales.

Como paso inicial fueron seleccionadas cetonas  $\alpha,\beta$ -insaturadas con valores experimentales reportados de su reactividad como nucleófilos. La predicción de la reactividad en un conjunto de cetonas  $\alpha,\beta$ -insaturadas se vuelve más compleja debido al aumento del número de sitios reactivos nucleofílicos, el carbono  $\beta$  y el átomo de carbono carbonílico. Los descriptores globales y locales (basados en los modelos de energía lineal y cuadrática) se evaluaron en fase acuosa y luego se compararon con la constante de velocidad experimental reportada por Schwobel *et al.*<sup>92</sup> para verificar el rendimiento de los diferentes descriptores de reactividad para las moléculas elegidas. Estas constantes de velocidad corresponden a la reacción entre cetonas  $\alpha,\beta$ -insaturadas en la Figura 4-1 y glutatión en una fase acuosa y se utilizarán como un indicador de la reactividad de las moléculas.

La tabla 4-1 muestra los descriptores globales para todas las moléculas en la Figura 4-1 junto con el logaritmo de la constante de velocidad experimental. La electrofiliidad de cetonas  $\alpha,\beta$ -insaturadas se describe dentro del modelo de energía cuadrático por el índice de electrofiliidad  $\omega$  de Parr. Al comparar los valores de la

**Tabla 4-1.:** Descriptores globales para moléculas en el conjunto de validación de la Figura 4.1 usando el modelo cuadrático de energía y el nivel de teoría  $\omega$ B97X-D3 / 6-311G(d,p) en solución acuosa (modelo de solvatación SMD). Log(k) representa los valores de las constantes de velocidad experimentales en  $M^{-1}min^{-1}$ ,  $\omega$  es la electrofilicidad en (eV),  $\Delta N_{max}$  es la cantidad fraccionada de una carga elemental que el sistema tiene que obtener para alcanzar  $N_{max}$  electrones,  $\epsilon_{LUMO}$  es la energía del orbital molecular desocupado mas bajo en eV y  $S$  es la blandura química en  $E_h$ .

Nº	Nombre	log(k)	$\Delta N_{max}$	$\omega$	$\epsilon_{LUMO}$	$S$
1	1-penten-3-ona	3.10	0.4444	1.0136	0.5705	2.6507
2	1-hexen-3-ona	3.07	0.4448	1.0128	0.5648	2.6580
3	1-octen-3-ona	3.03	0.4446	1.0107	0.5655	2.6617
4	3-penten-2-ona	1.43	0.4321	0.9657	0.7023	2.6303
5	2-octen-4-ona	1.42	0.4291	0.9484	0.7296	2.6418
6	4-hexen-3-ona	1.38	0.4288	0.9498	0.7354	2.6337
7	3-hepten-2-ona	1.10	0.4353	0.9764	0.6665	2.6405
8	3-octen-2-ona	1.06	0.4350	0.9749	0.6697	2.6407

electrofilicidad  $\omega$  con los valores experimentales, se concluye que la electrofilicidad solo discrimina entre familias de compuestos, pero no en una familia como por ejemplo en las moléculas con el doble enlace en la cadena alifática en el lado derecho de la molécula (moléculas 4,7 y 8). La energía del LUMO, que se puede aproximar como la afinidad electrónica y se puede usar como un descriptor de electrofilicidad alternativo, muestra la misma tendencia en la que los compuestos más reactivos se separan de los menos reactivos, pero no se logra discriminación entre los compuestos menos reactivos. Lo mismo ocurre para la blandura global que se muestra en la última columna de la Tabla 4-1.

Los descriptores globales describen la reactividad de la molécula como un todo y no pueden discriminar entre dos sitios reactivos. Por lo tanto, no se sabe si describen la reactividad en el carbono  $\beta$  o en el carbono carbonílico en la molécula. Sin embargo, los descriptores locales asignan reactividad a sitios específicos cuando se condensan en átomos y podrían ser más adecuados para moléculas  $\alpha,\beta$ -insaturadas.

Como se describe en la sección de métodos, los descriptores de reactividad local

**Tabla 4-2.:** Descriptores locales condensados para las moléculas del conjunto de validación usando el modelo de energía cuadrático y lineal a nivel de teoría  $\omega$ B97X-D3 / 6-311G(d,p) basados en la aproximación de orbital molecular de frontera (FMO) en solución acuosa (modelo de solvatación SMD) y los valores de log de constante de velocidad experimental  $k$  ( $M^{-1}min^{-1}$ ).  $l_{\omega;N}$  es la respuesta local condensada de la electrofilicidad  $\omega$ ,  $f^+$  es la función de Fukui lineal condensada y  $s^+$  es la blandura local condensada (en  $E_h$ ) para los átomos diferentes en cada molécula.

Molecule	Respuesta de fragmento molecular log(k)	Fragmento de respuesta molecular			Fragmento de respuesta molecular		
		$l_{\omega;N}$	$f^+$	$s^+$	$l_{\omega;N}$	$f^+$	$s^+$
1-penten-3-ona	3.10						
$C_\beta$		0.1704	0.5612	1.4878	0.0911	0.2765	0.7330
$C_{C=O}$		0.1176	0.4360	1.1558	0.0810	0.2136	0.5664
O		0.1332	0.1187	0.3146	0.1300	0.1814	0.4810
1-hexen-3-ona	3.07						
$C_\beta$		0.1704	0.5606	1.4901	0.0911	0.2759	0.7335
$C_{C=O}$		0.1187	0.4371	1.1620	0.0807	0.2126	0.5653
O		0.1315	0.1180	0.3137	0.1289	0.1813	0.4821
1-octen-3-ona	3.03						
$C_\beta$		0.1704	0.5604	1.4918	0.0910	0.2759	0.7344
$C_{C=O}$		0.1197	0.4372	1.1639	0.0807	0.2127	0.5661
O		0.1286	0.1176	0.3132	0.1268	0.1811	0.4821
3-penten-2-ona	1.43						
$C_\beta$		0.1663	0.5594	1.4716	0.0751	0.2371	0.6238
$C_{C=O}$		0.1207	0.4648	1.2228	0.0769	0.2122	0.5582
O		0.1345	0.1148	0.3019	0.1323	0.1842	0.4846
2-octen-4-ona	1.42						
$C_\beta$		0.1645	0.5580	1.4742	0.0745	0.2370	0.6261
$C_{C=O}$		0.1207	0.4627	1.2224	0.0776	0.2139	0.5651
O		0.1272	0.1132	0.2993	0.1251	0.1803	0.4763
4-hexen-3-ona	1.38						
$C_\beta$		0.1644	0.5585	1.4710	0.0745	0.2374	0.6253
$C_{C=O}$		0.1193	0.4615	1.2155	0.0779	0.2149	0.5661
O		0.1298	0.1143	0.3011	0.1268	0.1806	0.4758
3-hepten-2-ona	1.10						
$C_\beta$		0.1724	0.5721	1.5107	0.0763	0.2365	0.6246
$C_{C=O}$		0.1202	0.4570	1.2067	0.0767	0.2097	0.5537
O		0.1317	0.1141	0.3013	0.1301	0.1825	0.4820
3-octen-2-ona	1.06						
$C_\beta$		0.1733	0.5720	1.5104	0.0770	0.2366	0.6247
$C_{C=O}$		0.1205	0.4575	1.2083	0.0764	0.2099	0.5544
O		0.1287	0.1142	0.3016	0.1277	0.1827	0.4826

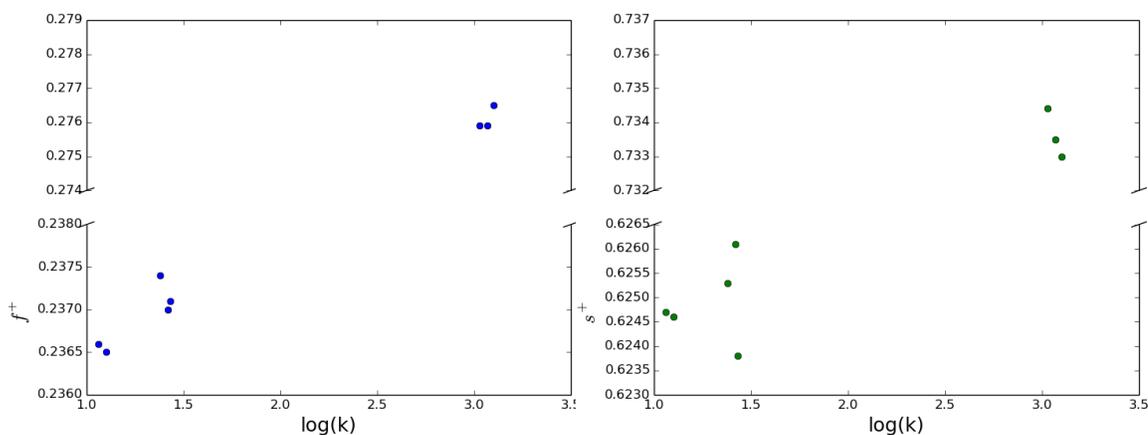
pueden calcularse empleando diferentes aproximaciones. Dependen del modelo de energía utilizado para expresar la dependencia de la energía con respecto al número total de electrones y generalmente se condensan en átomos con un enfoque de átomo en molécula para poder compararlos entre diferentes moléculas. En esta parte del trabajo también se compara entre la aproximación de Fragmento de la Respuesta Molecular (en inglés FMR), donde la condensación a los átomos no depende del número total de electrones del sistema, y la aproximación de Respuesta del Fragmento Molecular (en inglés RMF) donde la función de peso utilizada para condensar el descriptor local de los átomos también depende de la cantidad de electrones (ver la sección de Métodos).

En la Tabla **4-2** los descriptores locales del modelo de energía cuadrática  $l_{\omega;N}(\mathbf{r})$  y el modelo de energía lineal  $f^+(\mathbf{r})$  se condensaron en átomos para cada molécula en la Figura **4-1** usando el enfoque RMF y FMR y el método de partición Hirshfeld-I para verificar cómo estas aproximaciones alteran los diferentes descriptores. Usando la aproximación RMF, ambos descriptores identifican el sitio más reactivo como el átomo de carbono  $\beta$  en todas las moléculas, como se conoce a partir de los datos experimentales. En el enfoque RMF, algunos átomos presentan valores grandes para los descriptores condensados locales de  $f^+(\mathbf{r})$  y  $l_{\omega;N}(\mathbf{r})$ , cuya suma excede uno. Sin embargo, algunos otros átomos que no se muestran en la tabla presentan valores negativos que equilibran la suma total de la molécula completa a uno como se esperaba. En la aproximación FMR  $l_{\omega;N}(\mathbf{r})$  asigna el sitio más reactivo al átomo de oxígeno pero el valor condensado de  $f^+(\mathbf{r})$  es mayor en el átomo de carbono  $\beta$  de acuerdo con la reactividad experimental.

Dado que las moléculas tienen tamaños y grupos funcionales similares que difieren solo en su posición, el orden de reactividad experimental descrito por la constante de

velocidad para los compuestos (segunda columna de la Tabla 4-2) también debe ser reproducido por los descriptores locales. Sin embargo, la aproximación RMF no es capaz de asignar diferencias en las reactividades entre los compuestos para ninguno de los dos descriptores locales. En el enfoque FMR, el descriptor local  $l_{\omega;N}(\mathbf{r})$  no reproduce el sitio más reactivo (lo asigna al átomo de oxígeno) y  $f^+(r)$  obtenido del modelo de energía lineal identifica correctamente el átomo de carbono  $\beta$  como el sitio más reactivo y además también reproduce el orden de reactividad experimental dado por la constante de velocidad experimental. La figura 4-2 muestra la función condensada de Fukui  $f^+(\mathbf{r})$  en el sitio más reactivo de la molécula, el átomo de carbono  $\beta$ , frente a los valores de constantes de velocidad experimental. En general, se observa una buena correlación entre la constante de velocidad y el valor condensado de  $f^+(\mathbf{r})$ . Sin embargo, la comparación de los valores en la Tabla 4-2 muestra una excepción que no sigue la tendencia de reactividad experimental: 4-hexen-3-ona. Pero, también se debe de considerar que los valores experimentales de las constantes de velocidad tienen un error asociado que podría estar en el segundo decimal y haría difícil una diferenciación entre 4-hexen-3-ona y 2-octen-4-ona o 3-penten-2-ona. Teniendo en cuenta esta incertidumbre y la comparación con los otros descriptores locales, los valores condensados de  $f^+(\mathbf{r})$  bajo el enfoque FMR separan correctamente tres grupos de moléculas, que tienen constantes de velocidad experimental en un rango cercano y reproduce mejor la reactividad de este tipo de moléculas.

Cuando las moléculas difieren en el número de átomos, a menudo se elige la blandura local para comparar las reactividades locales entre las moléculas, ya que tiene en cuenta la diferencia en la blandura o polarización de las moléculas (ver la sección Métodos).<sup>73,74</sup> Sin embargo, para las cetonas  $\alpha,\beta$ -insaturadas estudiadas aquí, los valores condensados de la blandura local no reproducen la tendencia de reactividad



**Figura 4-2.:** Función de Fukui condensada  $f^+(\mathbf{r})$  (en azul) y blandura local  $s^+(\mathbf{r})$  (en verde) para el átomo de carbono  $\beta$  de las moléculas del conjunto de validación (aproximación FMR) vs. valores de log de las constantes de velocidad experimental  $k$  ( $M^{-1}min^{-1}$ ).

experimental correcta (ver Figura 4-2 lado derecho). Esto podría deberse a las similitudes entre los valores de blandura de las moléculas que se muestran en la Tabla 4-1 y al hecho de que la blandura calculada a partir del modelo de energía cuadrática no reproduce la reactividad global de las moléculas.

Curiosamente, los valores condensados de  $l_{\omega;N}(\mathbf{r})$  en el carbono  $\beta$  bajo el enfoque FMR en la Tabla 4-2 reproduce la misma tendencia de reactividad observada en el descriptor global  $\omega$  para todas las moléculas del conjunto de validación. Considerando que  $\omega$  y  $l_{\omega;N}(\mathbf{r})$  son los descriptores de reactividad globales y local derivados del mismo modelo de energía cuadrática, el orden de reactividad de los descriptores locales y globales es consistente dentro del modelo de energía pero no reproduce la reactividad experimental del compuesto. La función de Fukui  $f^+(\mathbf{r})$  en el enfoque RMF también ofrece el mismo orden que  $\omega$  y  $l_{\omega;N}(\mathbf{r})$  (FMR).

Teniendo en cuenta todas estas observaciones, el enfoque FMR en combinación con la función condensada de Fukui  $f^+[C_\beta]$  reproduce mejor el orden de reactividad dado por los valores experimentales de las constantes de velocidad y, por lo tanto, se

utilizó para estudiar la reactividad de ésteres, tioésteres y amidas  $\alpha,\beta$ -insaturadas.

#### 4.1.2. Descriptores de reactividad en ésteres, tioésteres y amidas $\alpha,\beta$ -insaturados

La reactividad de ésteres, tioésteres y amidas  $\alpha,\beta$ -insaturados para formar el enolato reactivo después de la transferencia de hidruro y la posterior fijación de dióxido de carbono por el enolato se abordó en dos procesos diferentes. Para la reacción de transferencia de hidruro se consideró la electrofilicidad y, por lo tanto, el ataque nucleofílico en los ésteres, tioésteres y amidas neutros  $\alpha,\beta$ -insaturados. Para la reacción de fijación de dióxido de carbono, se estudió la nucleofilicidad del intermedio de enolato. Para los dos procesos, los valores de los descriptores globales y locales se han calculado para las respectivas moléculas neutras y aniónicas en vacío y en solución acuosa. Los efectos de los solventes sobre la reactividad se estimaron utilizando el modelo implícito de solvatación SMD.<sup>93</sup>

Las moléculas estudiadas difieren en el sustituyente R1 en el átomo de carbono  $\beta$ , el heteroátomo X (oxígeno, nitrógeno o azufre) y el grupo unido covalentemente al heteroátomo R2 (hidrógeno, metilo o dimetilo). Para identificar las diferentes moléculas se adoptó la siguiente sintaxis: R1-X-R2, por ejemplo: H-S-Me, Me-S-Me, H-O-Me, Me-O-Me, H-N-H<sub>2</sub>, Me-N-H<sub>2</sub>, H-N-Me<sub>2</sub> o Me-N-Me<sub>2</sub>.

#### Ataque nucleofílico del anión hidruro en tioésteres, ésteres y amidas-insaturadas

En el ataque nucleofílico del anión hidruro en los ésteres, tioésteres y amidas  $\alpha,\beta$ -insaturados (ver Figura 4-3), las moléculas son electrófilos y, por lo tanto, se calcularon los descriptores globales como la electrofilicidad  $\omega$  y la afinidad electrónica.

Para la afinidad electrónica, el enfoque de diferencia finita se comparó con la energía del LUMO. Los descriptores globales se muestran en la Tabla 4-3.

**Tabla 4-3.:** Descriptores globales de electrofilicidad (en eV) para ésteres, tioésteres y amidas  $\alpha,\beta$ -insaturados neutras a nivel de teoría  $\omega$ B97X-D3 / 6-311G(d,p) en vacío y solución acuosa (modelo de solvatación SMD).

R1-X-R2	Vacío				Solvente			
	$\epsilon_{LUMO}$	$A$	$\omega$	$\Delta N_{max}$	$\epsilon_{LUMO}$	$A$	$\omega$	$\Delta N_{max}$
H-S-Me	0.4053	-0.3614	1.0259	0.4584	0.3457	2.0677	1.0534	0.4645
H-O-Me	0.8852	-0.9688	0.9833	0.4204	0.7968	1.6979	1.0253	0.4286
H-N-H <sub>2</sub>	1.1989	-1.3239	0.8143	0.3887	1.1142	1.3831	0.8868	0.3996
H-N-Me <sub>2</sub>	1.1711	-1.1549	0.7472	0.3842	1.0788	1.3883	0.7879	0.3938
Me-S-Me	0.6291	-0.4979	0.9327	0.4359	0.5123	1.8662	0.9804	0.4476
Me-O-Me	1.1252	-1.1040	0.8651	0.3973	0.9770	1.4674	0.9068	0.4096
Me-N-H <sub>2</sub>	1.4390	-1.4535	0.7341	0.3675	1.3042	1.1386	0.7974	0.3811
Me-N-Me <sub>2</sub>	1.3857	-1.2747	0.6785	0.3643	1.2501	1.1636	0.7329	0.3780



**Figura 4-3.:** Ataque nucleofílico del anión hidruro en moléculas carboxílicas  $\alpha,\beta$ -insaturadas

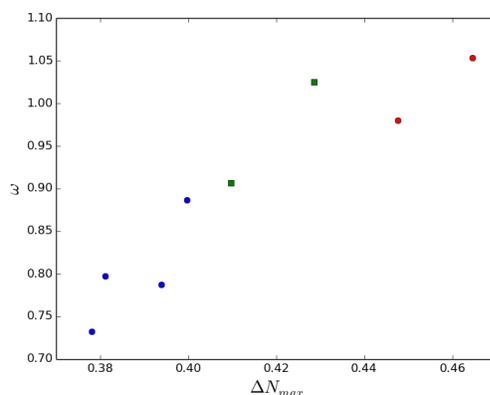
La electrofilicidad  $\omega$  definida por Parr identifica los tioésteres  $\alpha,\beta$ -insaturados como las moléculas más reactivas seguidas por los ésteres y las amidas. Al cambiar el grupo R1 de hidrógeno a un grupo metilo disminuye la reactividad. El efecto del solvente acuoso representado por el modelo de solvente implícito en los cálculos de la estructura electrónica aumenta ligeramente la reactividad con respecto a los valores en vacío.

La afinidad electrónica también podría usarse como un descriptor global de la electrofilicidad. La afinidad electrónica de los sistemas moleculares se puede evaluar bajo el enfoque de diferencia finita, que implica el cálculo del anión inestable o el uso de la energía del LUMO ignorando la relajación de los orbitales moleculares tras

la adición de electrones. Como se muestra en la Tabla 4-3, en el nivel de teoría  $\omega$  B97X-D3/6-311G(d,p) las energías del LUMO son positivas y la afinidad electrónica negativa y cercana entre sí en valor absoluto en cálculos en vacío. Esto implica que en el vacío el anión es menos estable que el sistema molecular neutro y el valor obtenido con el enfoque de diferencia finita podría depender del conjunto base empleado. Pero, cualquiera de las aproximaciones de la afinidad electrónica da como resultado el mismo orden de reactividad que el predicho por  $\omega$ , con la excepción de las aminas metiladas. Cuando se agrega el solvente, la afinidad electrónica del enfoque de diferencia finita difiere considerablemente de la energía del LUMO, ya que el solvente implícito hace que el anión sea más estable que el sistema molecular neutro. Esto da como resultado afinidades positivas de electrones  $A$ , que nuevamente muestran un orden de reactividad similar a la electrofilicidad  $\omega$  definida por Parr. Como se mostrará a continuación, la afinidad electrónica como descriptor global presenta un orden de reactividad común con el valor condensado de  $f^+(\mathbf{r})$  en el átomo de carbono carbonílico y no en el átomo de carbono  $\beta$ .

Junto con la electrofilicidad  $\omega$  definida por Parr también analizamos los valores de  $\Delta N_{max}$ . En la Figura 4-4 comparamos los dos valores para las moléculas estudiadas y encontramos que  $\Delta N_{max}$  también separa bien tioésteres, ésteres y amidas:  $\Delta N_{max}$  (amidas)  $<$   $\Delta N_{max}$  (ésteres)  $<$   $\Delta N_{max}$  (tioésteres) mientras que  $\omega$  es más sensible para el grupo R1.

Del análisis de los descriptores globales se obtiene que los tioésteres  $\alpha,\beta$ -insaturados serían las moléculas más reactivas seguidas por los ésteres y las amidas. El grupo metilo disminuye la reactividad y la adición del solvente conduce a un aumento en su reactividad. Sin embargo, como se señaló en la validación de los descriptores descritos anteriormente, uno debe tener en cuenta que los descriptores globales solo describen



**Figura 4-4.:** Relación entre  $\Delta N_{max}$  and  $\omega$  para moléculas carboxílicas  $\alpha,\beta$ -insaturadas en fase solvente. Amidas en azul, ésteres en verde y tioésteres en rojo.

la molécula como un todo y no la reactividad de un sitio específico. En el caso de las cetonas descritas anteriormente, se demostró que los descriptores globales no reproducen el orden de reactividad del átomo de carbono  $\beta$ , que es el más reactivo como lo demuestra el estudio experimental.

Por lo tanto, los descriptores locales se calcularon para los tioésteres, ésteres y amidas  $\alpha,\beta$ -insaturados empleando el modelo de energía lineal y cuadrática bajo la aproximación FMR (la aproximación RMF se descartó ya que no reproducía el orden correcto de reactividad en las cetonas). La función de Fukui  $f^+(\mathbf{r})$  (modelo de energía lineal) y  $l_{\omega;N}(\mathbf{r})$  (modelo de energía cuadrática) en combinación con la aproximación FMO<sup>68</sup> se condensaron en átomos con el método de partición de Hirshfeld-I<sup>94</sup> (la aproximación de diferencia finita no se consideró debido a los aniones inestables en el vacío). Los valores condensados para los átomos reactivos  $\beta$  y carbono carbonílico se muestran en la Tabla 4-4. También aquí se consideró la influencia del solvente en el descriptor de reactividad local.

Los valores condensados de las funciones de Fukui  $f^+(\mathbf{r})$  (modelo de energía lineal) muestran su mayor valor en el átomo de carbono  $\beta$  como se esperaba. Esto se eviden-

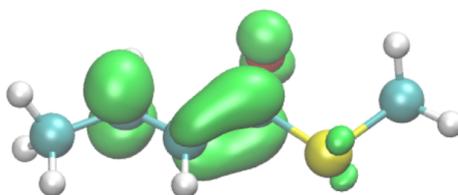
**Tabla 4-4.:** Descriptores locales para la electrofilicidad de ésteres, tioésteres y amidas  $\alpha,\beta$ -insaturados neutras (modelo de energía lineal y cuadrático bajo la aproximación FMR) usando a su vez aproximación de orbital molecular de frontera (FMO)( $\omega$ B97X-D3 / 6-311G(d,p))en vacío y solución acuosa (modelo de solvatación SMD).

R1-X-R2	atom	Vacío		Solvente	
		$l_{\omega;N}$	$f^+$	$l_{\omega;N}$	$f^+$
H-S-Me	$C_\beta$	0.0975	0.2823	0.0973	0.2703
	$C_{C=O}$	0.0708	0.1974	0.0786	0.2168
H-O-Me	$C_\beta$	0.0975	0.3214	0.1419	0.3132
	$C_{C=O}$	0.0538	0.1522	0.0550	0.1691
H-N-H <sub>2</sub>	$C_\beta$	0.0924	0.3362	0.0924	0.3236
	$C_{C=O}$	0.0416	0.1245	0.0470	0.1396
H-N-Me <sub>2</sub>	$C_\beta$	0.0861	0.3226	0.0880	0.3147
	$C_{C=O}$	0.0416	0.1329	0.0470	0.1459
Me-S-Me	$C_\beta$	0.0803	0.2420	0.0840	0.2326
	$C_{C=O}$	0.0664	0.1983	0.0748	0.2183
Me-O-Me	$C_\beta$	0.1094	0.2746	0.1087	0.2682
	$C_{C=O}$	0.0457	0.1529	0.0525	0.1711
Me-N-H <sub>2</sub>	$C_\beta$	0.0733	0.2863	0.1042	0.2757
	$C_{C=O}$	0.0393	0.1257	0.0404	0.1432
Me-N-Me <sub>2</sub>	$C_\beta$	0.0687	0.2748	0.0730	0.2681
	$C_{C=O}$	0.0391	0.1333	0.0450	0.1485

cia a partir de la distribución de la función Fukui  $f^+(\mathbf{r})$  con una gran contribución en este átomo que se muestra para el sistema Me-S-Me como representante de todas las moléculas en la Figura 4-5. El átomo de carbono carbonílico presenta valores condensados más pequeños para  $f^+(\mathbf{r})$ . Además, los valores condensados de  $l_{\omega;N}(\mathbf{r})$  (modelo de energía cuadrática) muestran un valor más alto en el átomo de carbono  $\beta$  con respecto al átomo de carbono carbonílico, pero el valor máximo no siempre está en el átomo de carbono  $\beta$  como se esperaba.

El estudio de validación en cetonas mostró que los descriptores locales son más adecuados para describir las tendencias de reactividad en este tipo de moléculas. Por lo tanto, también aquí se compararon los valores de los descriptores locales entre las diferentes moléculas para establecer un orden de reactividad. Cuando se considera

el descriptor local del modelo de energía cuadrática  $l_{w;N}(\mathbf{r})$  en el átomo de carbono carbonílico, los tioésteres son las moléculas más reactivas seguidas por el éster y las amidas. Esto concuerda con el orden proporcionado por descriptores globales como la electrofilicidad. Sin embargo, en la validación de las cetonas, se demostró que  $l_{w;N}(\mathbf{r})$  no identifica el sitio más reactivo (átomo de carbono  $\beta$ ) en la molécula bajo la aproximación FMR y no describe la tendencia de reactividad correctamente.



**Figura 4-5.:** Función de Fukui  $f^+(\mathbf{r})$  de molécula neutra Me-S-Me en vacío.

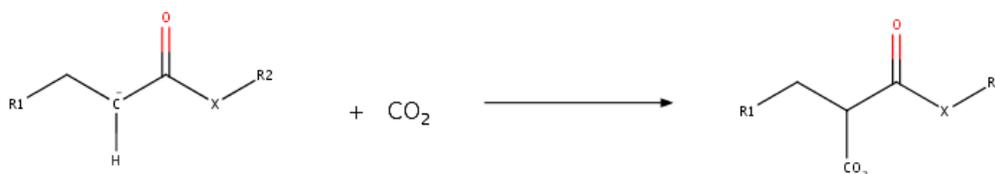
El descriptor local  $f^+(\mathbf{r})$  del modelo de energía lineal, sin embargo, reprodujo correctamente la reactividad del conjunto de validación reportado en el experimento. Para los tioésteres, ésteres y amidas  $\alpha,\beta$ -insaturados, los valores condensados de  $f^+(\mathbf{r})$  en el átomo de carbono  $\beta$  asignan a las amidas como las moléculas más reactivas seguido por los ésteres y los tioésteres. La presencia de un grupo metilo en R1 disminuye su reactividad como la presencia del solvente o dos grupos metilo en lugar de átomos de hidrógeno unidos al átomo de nitrógeno. Curiosamente,  $f^+(\mathbf{r})$  en el carbono carbonílico también muestra el mismo orden de reactividad de la afinidad electrónica (A) para el tioéster, el éster y las amidas. De esta comparación, se podría concluir que los descriptores globales de los compuestos  $\alpha,\beta$ -insaturados están más asociados con la reactividad en el átomo de carbono carbonílico y cada descriptor local y global es consistente dentro de su modelo de energía.

La validación de descriptores locales y globales en cetonas discutidas anteriormente identificó los valores condensados de  $f^+(\mathbf{r})$  como el descriptor más apropiado para

predecir la reactividad en este tipo de moléculas. Por lo tanto, se puede concluir que las amidas representan las moléculas más reactivas para la transferencia de hidruros, seguidas por los ésteres y los tioésteres.

### Ataque electrofílico hacia los enolatos aniónicos $\alpha,\beta$ -insaturados por parte del $\text{CO}_2$

Después de que se transfiere el anión hidruro y se forma el enolato, el segundo paso involucrado en la fijación enzimática de  $\text{CO}_2$  es el ataque electrofílico de la molécula de dióxido de carbono en el enolato (ver Figura 4-6). Para este paso, las diferentes reactividades del enolato también pueden afectar el mecanismo general de reacción de fijación enzimática de  $\text{CO}_2$ . Para evaluar la reactividad del enolato como nucleófilo hacia  $\text{CO}_2$ , se calcularon descriptores de reactividad global y local de nucleofilicidad para cada enolato construido a partir de las moléculas R1-X-R2 discutidas anteriormente.



**Figura 4-6.:** Reacción de carboxilación del enolato formado a partir de la adición del hidruro.

La tabla 4-5 muestra para los aniones el índice de nucleofilicidad  $N_{FD}$  definido por Contreras<sup>61</sup> como el negativo del potencial de ionización y la energía del HOMO  $\epsilon_{HOMO}$ . La diferencia entre los dos es que  $N_{FD}$  toma en cuenta la relajación orbital después de la eliminación de un electrón del anión. El valor negativo de la energía HOMO para todos los sistemas estudiados implica que los aniones son estables y que el potencial de ionización es positivo, como lo demuestra un valor negativo de  $N_{FD}$ . En el vacío, los dos valores están cerca uno del otro y muestran la misma tendencia

entre las diferentes moléculas: el enolato más nucleofílico es el formado a partir de R1-NH<sub>2</sub> seguido de R1-N-Me<sub>2</sub>, el éster y el tioéster. Hay un aumento muy pequeño en la nucleofilicidad cuando el grupo metilo en R1 es reemplazado por un átomo de hidrógeno.

Dado que el enolato presenta una carga negativa, el solvente acuoso estabilizaría el anión considerablemente, lo que daría lugar a un aumento en el potencial de ionización y también en la energía del HOMO. Como se evidencia en la Tabla 4-5, ambos indicadores nucleofílicos globales aumentan (valores absolutos) con el solvente y también presentan una mayor diferencia entre ellos. La diferencia surge porque se espera que la relajación orbital juegue un papel importante cuando el solvente está presente, lo que podría polarizar el anión. Cuando los indicadores nucleofílicos globales se comparan con el vacío, se observa que el disolvente hace que la diferencia entre cada molécula R1-X-R2 sea menor, pero el orden de reactividad general se mantiene con solo algunos cambios menores en el orden de las amidas y el éster.

**Tabla 4-5.:** Descriptores globales (en eV) para tioéster, éster y amidas aniónicas  $\alpha,\beta$ -insaturadas ( $\omega$ B97X-D3 / 6-311++G(d,p)) en vacío y solución acuosa (modelo de solvatación SMD).

R1-X-R2	Vacío		Solvente	
	$\epsilon_{HOMO}$	$N_{FD}$	$\epsilon_{HOMO}$	$N_{FD}$
H-S-Me	-2.2699	-2.0750	-6.9770	-4.4981
H-O-Me	-1.6798	-1.5787	-6.7557	-4.1516
H-N-H <sub>2</sub>	-1.5816	-1.4844	-6.7068	-4.0952
H-N-Me <sub>2</sub>	-1.7587	-1.5345	-6.7495	-4.1540
Me-S-Me	-2.3836	-2.1242	-6.9751	-4.5205
Me-O-Me	-1.8306	-1.6449	-6.7607	-4.1783
Me-N-H <sub>2</sub>	-1.7244	-1.5525	-6.7074	-4.1155
Me-N-Me <sub>2</sub>	-1.8836	-1.5943	-6.7206	-4.1542

A partir de estos resultados, se concluye que para describir la nucleofilicidad de las especies cargadas negativamente, el potencial de ionización y la nucleofilicidad asociada es más apropiado para describir la reactividad de los sistemas moleculares en

la fase acuosa. La nucleofilicidad indica que los no metilados, seguidos de las amidas metiladas, son los enolatos más reactivos de las moléculas estudiadas en solución acuosa.

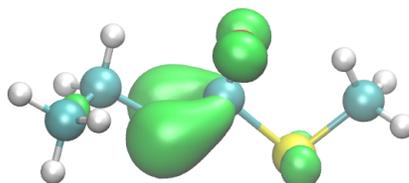
El indicador global nucleofílico ( $N_{FD}$ ) para los enolatos fue contrastado con el descriptor de reactividad local, que para ambos modelos de energía es la función de Fukui  $f^-(r)$  (ver la sección Métodos). La función de Fukui nucleofílica  $f^-(\mathbf{r})$  se condensó en átomos para cada enolato R1-X-R2 con el método Hirshfeld-I y los valores para el átomo de carbono  $\alpha$ , el átomo de carbono carbonílico y átomo de oxígeno se muestran en la Tabla 4-6 para las moléculas en vacío y en solución acuosa.

**Tabla 4-6.:** Función de Fukui condensada  $f^-$  de diferentes átomos (en corchetes) para tioéster, éster y amidas aniónicas  $\alpha,\beta$ -insaturadas ( $\omega$ B97X-D3 / 6-311++G(d,p), aproximación FMR) en vacío y solución acuosa (modelo de solvatación SMD).

R1-X-R2	$f^-_{[C\alpha]}$	$f^-_{[C(C=O)]}$ Vacío	$f^-_{[O(C=O)]}$	$f^-_{[C\alpha]}$	$f^-_{[C(C=O)]}$ Solvente	$f^-_{[O(C=O)]}$
H-S-Me	0.4327	0.1104	0.1926	0.3894	0.1221	0.1936
H-O-Me	0.4826	0.0971	0.1968	0.4584	0.1096	0.1841
H-N-H <sub>2</sub>	0.4785	0.0909	0.2005	0.4495	0.1094	0.1724
H-N-Me <sub>2</sub>	0.4621	0.0934	0.2060	0.4362	0.1081	0.1697
Me-S-Me	0.4355	0.1068	0.1862	0.3902	0.1202	0.1936
Me-O-Me	0.4847	0.0936	0.1907	0.4622	0.1072	0.1803
Me-N-H <sub>2</sub>	0.4779	0.0876	0.1957	0.4516	0.1072	0.1694
Me-N-Me <sub>2</sub>	0.4688	0.0897	0.1916	0.4375	0.1054	0.1727

Independientemente del entorno, el mayor valor del descriptor de reactividad nucleofílica condensada derivado de  $f^-(\mathbf{r})$  se observa en el átomo de carbono  $\alpha$  como cabría esperar. Esto concuerda con la distribución de la función de Fukui  $f^-(\mathbf{r})$  que se muestra para el enolato en la Figura 4-7. El segundo sitio más reactivo en las moléculas R1-X-R2 se encuentra en el átomo de oxígeno, ya que la carga negativa está parcialmente deslocalizada entre el átomo de carbono  $\alpha$  y este átomo. También aquí, la presencia del solvente disminuye los valores de  $f^-(\mathbf{r})$  condensados en

el átomo de carbono  $\alpha$  y el átomo de oxígeno carbonílico, lo que indica una menor reactividad que los descriptores globales .



**Figura 4-7.:** Función de Fukui  $f^-(r)$  de la molécula Me-S-Me aniónica en vacío.

Comparando los valores del descriptor de nucleofilicidad local condensado  $f^-(\mathbf{r})$  en los átomos de carbono  $\alpha$  más reactivos, uno identifica los valores más grandes en los ésteres seguidos por las amidas, cuyos valores se vuelven muy similar después de la adición del solvente. Los tioésteres y las amidas metiladas presentan valores significativamente menores. Para los enolatos en la fase acuosa, por lo tanto, el descriptor nucleofílico global y el local asociado  $f^-(\mathbf{r})$  identificaron las amidas y los ésteres como las moléculas  $\alpha,\beta$ -insaturadas más reactivos hacia la adición de un electrófilo como  $\text{CO}_2$  y el efecto de agregar un grupo metilo en R1 es solo marginal.

### 4.1.3. Resumen de la primera sección de resultados

A partir de los resultados presentados anteriormente, se concluye que para el ataque nucleofílico en compuestos  $\alpha,\beta$ -insaturados, los descriptores de reactividad local son más apropiados para describir la reactividad de la molécula en comparación con los globales. Se estableció que los descriptores de reactividad locales y globales son consistentes en el orden de reactividad de las moléculas para el mismo modelo de energía, como se observó para la electrofilicidad de Parr  $\omega$  y el descriptor local condensado de electrofilicidad  $l_{\omega,N}(\mathbf{r})$ . Entre todos los descriptores estudiados, la función

de Fukui  $f^+(\mathbf{r})$  condensada calculada por la aproximación de fragmento de respuesta molecular (FMR) identificó correctamente el átomo  $C_\beta$  como el sitio más reactivo y el valor en este átomo asignó el orden de reactividad experimental correctamente para cetonas  $\alpha,\beta$ -insaturadas.

El valor condensado de la función de Fukui  $f^+(\mathbf{r})$  (aproximación FMR) también localiza correctamente el sitio más reactivo en el átomo de carbono  $\beta$  para tioésteres, ésteres y amidas  $\alpha,\beta$ -insaturados, que son sustratos alternativos para la fijación de  $\text{CO}_2$  por parte de la crotonil-CoA-carboxilasas. De todos los sistemas R1-X-R2 estudiados, este descriptor identificó las amidas como las moléculas más propensas al ataque nucleofílico por el anión hidruro. Los tioésteres, que son los sustratos naturales, presentan la menor reactividad independientemente de la presencia de un solvente. Estos resultados son alentadores ya que proponen las amidas como sustratos alternativos más reactivos para la fijación de  $\text{CO}_2$  (suponiendo que la cinética de unión de las amidas a la enzima es comparable a la de los tioésteres).

Después de la formación de las especies de enolato por el anión hidruro, debe producirse un ataque electrofílico por parte de la molécula de dióxido de carbono para formar los productos. Este paso depende de la nucleofilicidad de los enolatos y se abordó con descriptores de reactividad nucleofílica global y local. También aquí, el valor condensado de  $f^-(\mathbf{r})$  describió el sitio más reactivo en la molécula correctamente en el átomo de carbono  $\alpha$  e identificó los ésteres y las amidas como los más reactivos.

En total, el estudio de reactividad en compuestos  $\alpha,\beta$ -insaturados muestra que para las moléculas con más de un sitio reactivo, los descriptores de reactividad global no representan necesariamente la reactividad en el sitio más reactivo y, por lo tanto, pueden no reproducir experimentalmente la tendencia de reactividad observada. A partir de los descriptores locales que pueden usarse para asignar la reactividad a las

moléculas estudiadas con estructura química similar, la función de Fukui condensada evaluada por la aproximación FMR reproduce los valores experimentales mejor que el descriptor local condensado  $l_{\omega,N}(\mathbf{r})$  derivado del modelo de energía cuadrática.

Con respecto a la reactividad de los compuestos  $\alpha,\beta$ -insaturados como sustratos alternativos para las enzimas Crotonil-CoA-carboxilasa para fijar  $\text{CO}_2$ , las amidas parecen ser los mejores candidatos debido a su mayor afinidad por la transferencia de hidruros y su mayor nucleofilicidad por  $\text{CO}_2$  después de la formación del enolato. Para confirmar este resultado, en un futuro la cinética de reacción de la enzima con estos sustratos podría ser estudiada por grupos experimentales (suponiendo la misma cinética de unión). Sin embargo, debe tenerse en cuenta que la influencia de la enzima en la reactividad del sustrato o los posibles cambios conformacionales del sustrato no se tomaron en cuenta en esta primera parte del estudio. Estos efectos conformacionales y la influencia del entorno enzimático se abordarán a continuación en la próxima sección.

## 4.2. Reactividad química de compuestos

### $\alpha,\beta$ -insaturados en fase condensada y sistemas biológicos.

En esta sección se muestran los resultados del estudio de la reactividad en solutos solvatados por moléculas de agua y también bajo la influencia de un entorno enzimático. Debido a que cada uno de estos medios son no-isotrópicos, la naturaleza estadística del sistema cobra importancia y se debe de considerar cada una de las conformaciones igualmente probables que existen y que mostrarán diferente reactividad entre ellas. Estas fluctuaciones en la reactividad no solo se deben al cambio

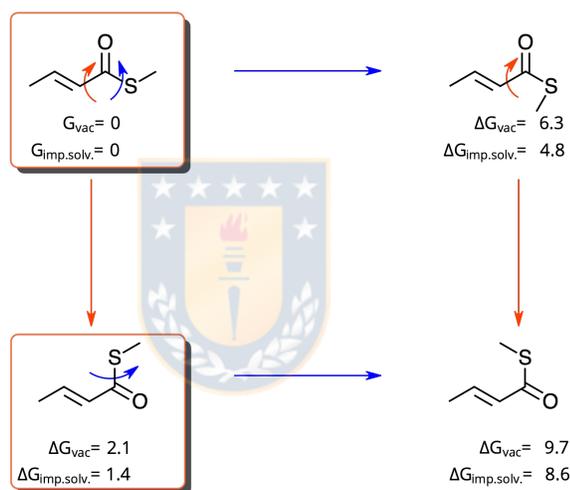
conformacional sino también a la polarización que sufre la densidad electrónica de la molécula de estudio por el medio representado explícitamente. En la siguiente subsección se presenta un estudio previo conformacional con el objetivo de conocer cuales son los grados de libertad mas importantes que deben de ser considerados. Luego se estudia el efecto del medio y de la dinámica molecular en los descriptores de reactividad, específicamente la función de Fukui condensada a átomos. Principalmente se considera un ambiente representado por moléculas de agua de forma explícita solvatando la molécula de estudio a diferentes temperaturas y también se considera el efecto sobre la reactividad de la enzima CCr sobre el sustrato y su comparación con los demás ambientes.

#### 4.2.1. Análisis Conformacional del sustrato

Como modelo de sustrato de la enzima, se utilizó el 2-butenotioato de metilo. De esta forma no se toma en cuenta el fragmento de coenzima A de la molécula de crotonyl-CoA, que es el principal responsable de la unión a la proteína pero que no participa en la reacción catalítica. Se analizaron las diferentes conformaciones que esta molécula puede adoptar mediante rotaciones de enlaces simples de ángulos diedros que contienen átomos pesados. La figura 4-8 muestra los confórmeros mas estables asociando el color a la respectiva rotación del enlace simple con la misma flecha de color que representa la transición conformacional. La energía libre relativa a 298 K se muestra debajo de cada confórmero en kcal/mol calculado en vacío a nivel de teoría  $\omega$  B97X/def2-svp bajo la aproximación del oscilador armónico y rotor rígido, debajo se muestra la energía libre usando el modelo de solvente implícito SMD que representa una solución acuosa. Solo dos confórmeros fueron obtenidos por la rotación del enlace  $C_\alpha-C_{C=O}$  mostrando una población significativa basada en

los valores calculados de energía libre ( $\simeq 3\%$  para el conformero menos estable en comparación a  $\simeq 97\%$  para el más estable. Esta distribución de la población también se mantiene en solución acuosa representada con el modelo de solvatación implícita, aunque la población del conformero menos estable aumenta a  $\simeq 9\%$ .

En base a este análisis conformacional inicial, el estudio se enfocó en la dependencia de los descriptores de reactividad locales en la transición conformacional entre los dos conformeros resaltados en la Figura 4-8.



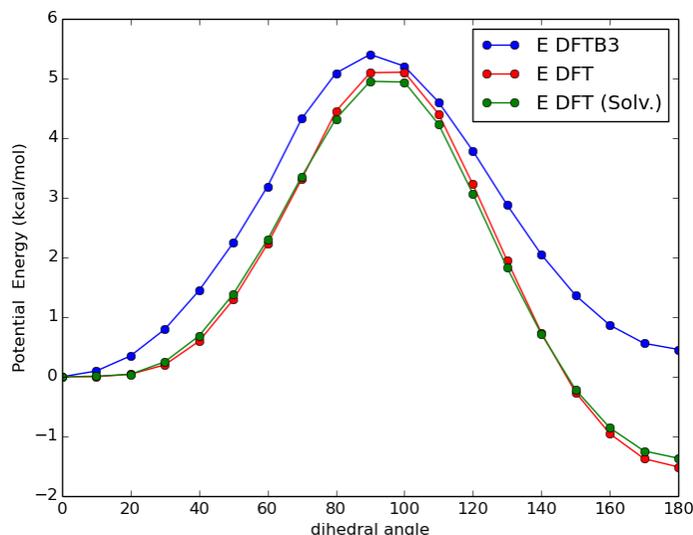
**Figura 4-8.:** Esquema que representa los conformeros más estables del tioéster  $\alpha,\beta$ -insaturado con las energías libre relativas en kcal/mol calculadas bajo la aproximación del rotor rígido-oscilador armónico a nivel de teoría  $\omega B97X/def2-svp$  en vacío y con solvente implícito representando la solución acuosa

Como se mencionó anteriormente se realizó primeramente un estudio conformacional basado en la rotación de enlaces simples en el tioéster de crotonilo para encontrar los mínimos locales en la superficie de energía potencial. Las geometrías se optimizaron al nivel de teoría  $\omega B97X/def2-svp$  y las energías libres de los mínimos locales se calcularon bajo la aproximación del rotor rígido-oscilador armónico que incluye energías de punto cero a 298 K usando el paquete Orca.<sup>86</sup> Se identificaron dos mínimos locales que son accesibles a temperatura ambiente y se optimizaron 37

configuraciones con valores uniformemente distribuidos a lo largo de la coordenada torsional que conecta los dos mínimos. Se realizó el mismo procedimiento para los cálculos utilizando el modelo solvente implícito SMD CPCM en el paquete Orca. Estas 37 conformaciones sirvieron como conformaciones iniciales para simulaciones de dinámica molecular en el colectivo NVT que emplea un Hamiltoniano semiempírico DFTB3 tal como se implementa en el paquete Amber16,<sup>88</sup> aplicando un termostato Langevin con los siguientes parámetros  $\Delta t = 1$  fs,  $\gamma = 4$  ps<sup>-1</sup>. El ángulo de torsión se restringió con un potencial armónico y una constante de fuerza de  $k_{restr} = 50$  kcal/mol rad<sup>-2</sup>. Para garantizar la correcta conservación de la energía en las simulaciones, los criterios de convergencia del cálculo de SCF se variaron entre 10<sup>-8</sup> y 10<sup>-11</sup> kcal/mol en el colectivo microcanónico asignando velocidades iniciales de acuerdo a una distribución Maxwell-Boltzmann a 300 K. El criterio de convergencia de 10<sup>-10</sup> kcal/mol no presentó una significativa desviación de la energía (en inglés energy-drift) en el tiempo de simulación empleado y se utilizaron para todas las simulaciones.

#### 4.2.2. Efecto del entorno y dinámica molecular en la función de Fukui condensada a átomos

Primeramente en esta parte se consideraron los dos confórmeros obtenidos más estables (a 0° y 180° con respecto al ángulo diedro  $C_\beta - C_\alpha - C_{C=O} - S$ ). Se optimizaron estructuras siguiendo la transición conformacional descrita por el ángulo diedro. La barrera de energía potencial es de 5.1 kcal/mol a nivel de teoría  $\omega$  B97X/def2-svp en el vacío y 4.9 kcal/mol usando el modelo de solvatación implícita. Estos valores coinciden dentro de la precisión química de 1 kcal/mol con el valor obtenido con el Hamiltoniano DFTB3 (5.4 kcal/mol) usado para las simulaciones de dinámica mo-



**Figura 4-9.** Energías potenciales (kcal/mol) calculadas usando DFT a nivel de teoría  $\omega$ B97X/def2-svp en vacío y usando el modelo de solvente implícito SMD comparado con cálculos DFTB3 en vacío en la transición conformacional asociada con los conformeros más estables de la figura 3-8

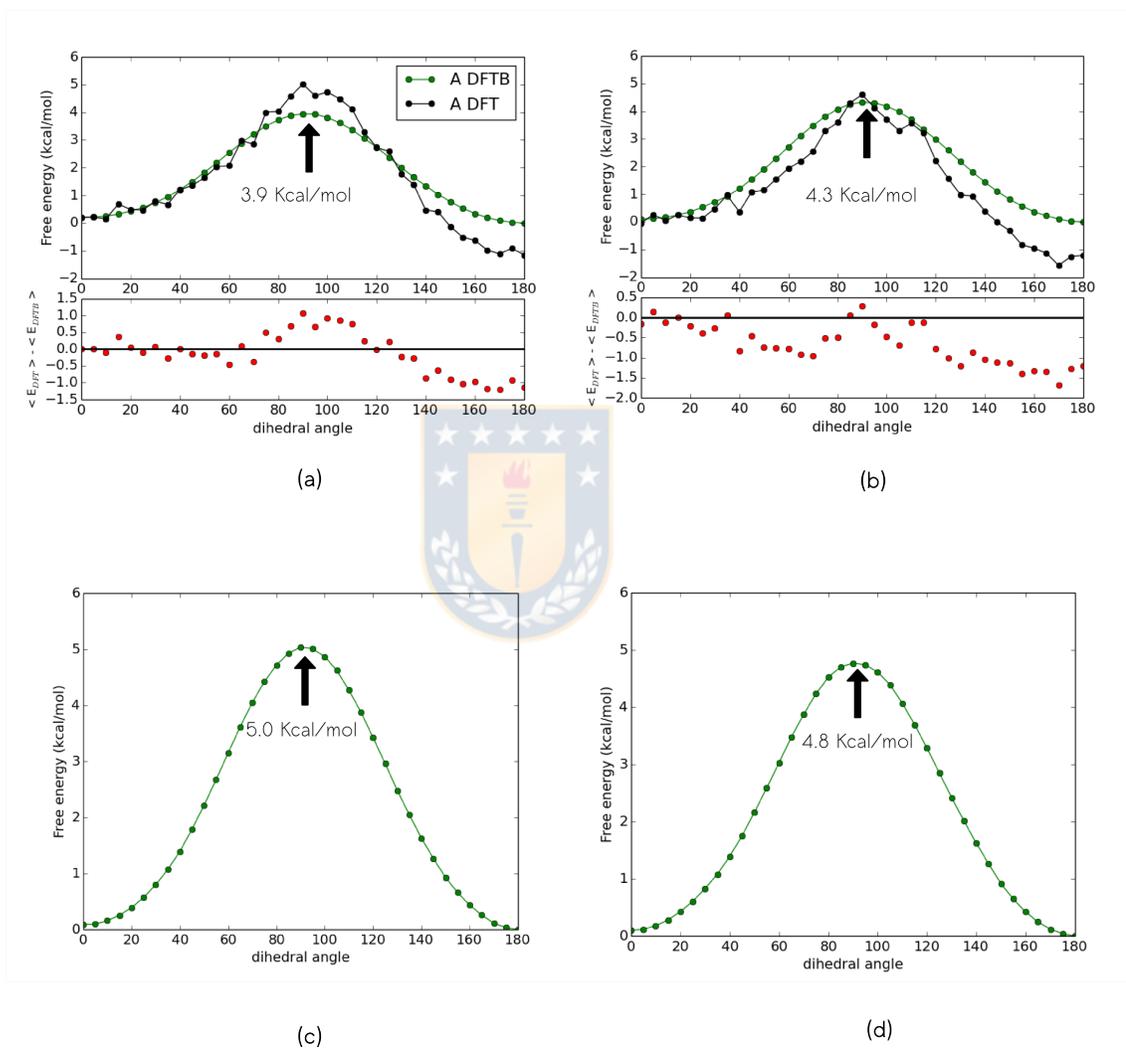
lecular. Sin embargo, el método semiempírico DFTB3 no reproduce la diferencia de energía entre los dos conformeros más estables con ángulos de  $180^\circ$  y  $0^\circ$ , lo que hace que el conformero menos estable sea más favorecido que el mínimo global en el nivel DFT ( $\Delta E_{\text{DFTB3}}(0^\circ - 180^\circ) = 0.5$  kcal/mol, ver la Figura 4-9).

Tomando en cuenta el efecto del entorno molecular y la dinámica en la reactividad química, se realizaron simulaciones de dinámica molecular que restringen el ángulo diedro con el método Umbrella Sampling, las cuales incluyen el efecto del movimiento nuclear y la entropía en diferentes entornos. Teniendo en cuenta los grados de libertad nucleares de forma clásica, la barrera de energía libre se redujo a 3.9 kcal/mol en vacío y a 4.3 kcal/mol utilizando el modelo de solvatación implícito, manteniendo en total la diferencia de energía libre entre los conformeros. Al describir el solvente con moléculas de aguas explícitas con metodología QM/MM, la barrera de energía libre es 5.0 kcal/mol a 300 K y 4.8 kcal/mol a 360 K (ver los

perfiles de energía libre en la Figura 4-10). Estas energías libres mencionadas anteriormente se obtuvieron con el método WHAM y el mismo método permitió calcular las probabilidades de cada ventana. El método WHAM<sup>84</sup> se utilizó para calcular la energía libre a lo largo de la coordenada torsional para las 37 ventanas. Las energías libres corregidas a nivel  $\omega$ B97X/def2-svp (ver Figura 4-10) se obtuvieron restando la diferencia promedio de energía potencial entre el nivel DFTB3 y  $\omega$ B97X/def2-svp para cada ventana, asumiendo que la contribución entrópica sigue siendo la misma  $A(DFT) = (\langle E_{DFT} \rangle - \langle E_{DFTB3} \rangle) + A_{DFTB3}$ . Las energías a nivel DFT se calcularon con  $\omega$ B97X/def2-svp y el programa Terachem<sup>89</sup> (usando el modelo implícito PCM) y las densidades electrónicas obtenidas sirvieron como entrada para calcular la función de Fukui condensada local utilizando el programa Chemtools.<sup>91</sup>

En total, se realizaron 200 ps de simulaciones de dinámica molecular por cada ventana (37 ventanas en total) en el vacío y utilizando un modelo de solvente implícito y explícito. Las simulaciones DM con solvente implícito se llevaron a cabo con el programa Amber usando el modelo de solvente Born a nivel de teoría DFTB3<sup>87</sup> con la metodología Umbrella Sampling a temperatura constante. Finalmente, se tomaron 400 estructuras representativas (cada 0.5 ps) por ventana (el tiempo de autocorrelación de velocidad en solvente explícito fue 0.2 ps) para el cálculo de la función de onda DFT usando el modelo de solvente PCM con el programa Terachem.<sup>89</sup>

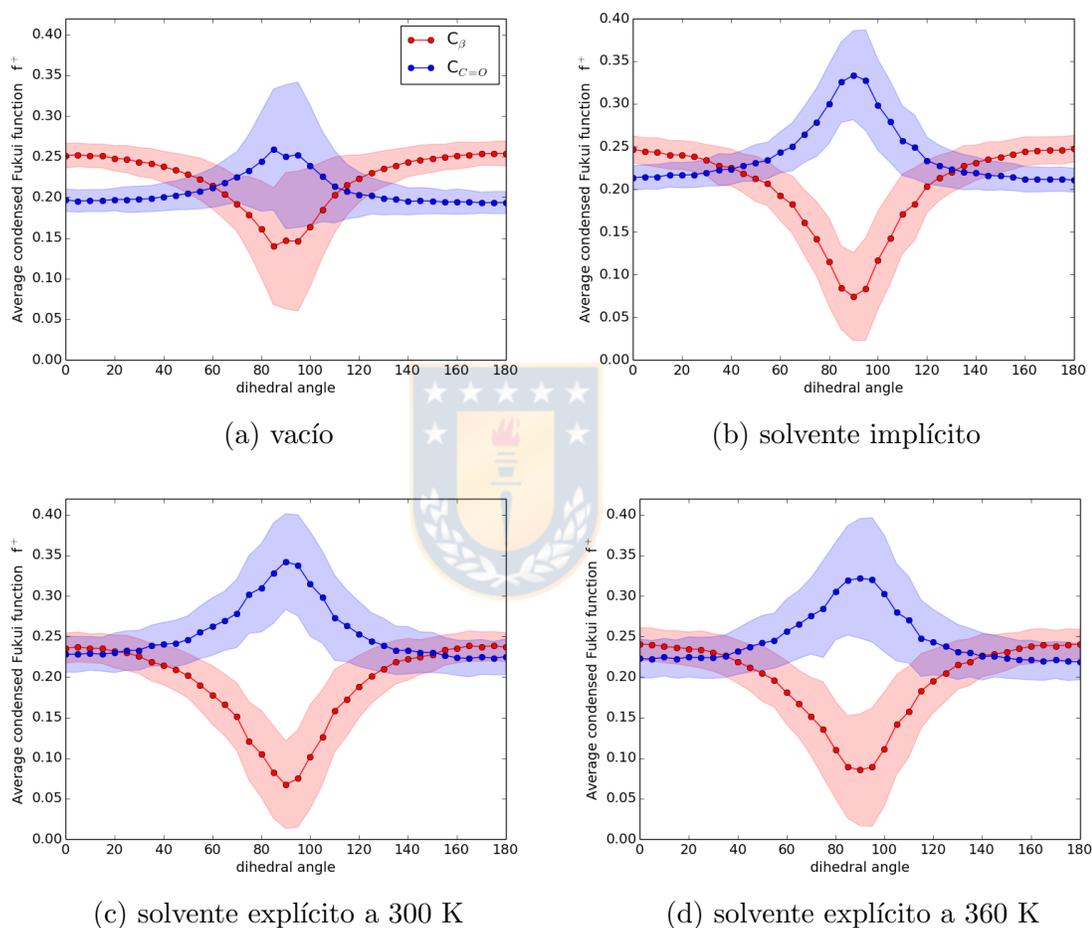
Las simulaciones que involucran un modelo de solvente explícito también se llevaron a cabo con el programa Amber usando condiciones de borde periódico en un embedding electrostático, con un radio de corte electrostático de 8 Å, aplicando el mismo termostato Langevin y el modelo de agua TIP3P,<sup>95</sup> manteniendo una distancia mínima del soluto a la pared de la caja de simulación cúbica de 15 Å en la configuración del sistema de simulación.



**Figura 4-10.:** Energía libre en kcal/mol en la transición conformacional descrita por la rotación del enlace simple entre los dos conformeros más estables en (a) vacío, (b) solvente implícito, (c) solvente explícito(agua) a 300 K y (d) solvente explícito(agua) a 360 K.

Para estudiar la dependencia conformacional en el ataque nucleofílico del anión hidruro en el sustrato se analizaron las funciones de Fukui condensadas promediadas en la transición conformacional entre los dos conformeros más estables. Los dos átomos más propensos al ataque nucleofílico son el carbono  $\beta$  y el átomo de carbono carbonílico. La figura 4-11 muestra los valores de Fukui condensados promediados de estos dos átomos obtenidos a partir de simulaciones de dinámica molecular con restricción del diedro en el vacío y con una representación implícita y también explícita del solvente acuoso a 300 K. Además, para las simulaciones con una descripción explícita del solvente, también se estudio el efecto de aumentar la temperatura a 360 K en la reactividad.

Las funciones de Fukui condensadas asignan la mayor reactividad al átomo de carbono  $C_\beta$  sobre el carbono carbonílico en la región de los conformeros más estables (cerca de 0 y 180°). La inclusión del solvente implícito reduce la diferencia de reactividad entre los dos átomos. En la región del estado de transición (aprox. de 60° a 120°) la reactividad cambia y el átomo de carbono carbonílico se convierte en el sitio más reactivo en la molécula, que se potencia en presencia del modelo de solvente implícito posiblemente debido a una densidad electrónica más polarizada por el efecto de la solución acuosa. El cambio en la reactividad tras la rotación se asocia con una pérdida en la conjugación del sistema electrónico  $\pi$  que involucra el enlace  $C_\beta - C_\alpha$  y el enlace carbonílico. Al comparar el descriptor promedio de reactividad local de la dinámica con los de las estructuras optimizadas (ver Fig. A1 en el Anexo A) para sistemas en vacío y solvente implícito, se observó que la inclusión de la dinámica nuclear no cambia la reactividad general, aunque reduce ligeramente los mínimos y máximos de la función de Fukui condensada en los estados de transición. Se debe mencionar que los sistemas en vacío y solvente implícito se usaron como sistemas de

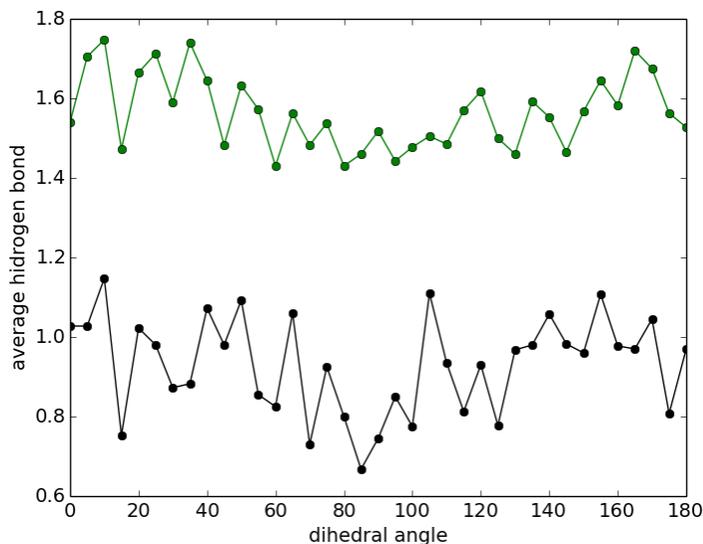


**Figura 4-11.:** Función de Fukui condensada promedio en el carbono  $C_\beta$  (rojo) y átomo de carbono carbonílico (azul) en el metil tioester  $\alpha,\beta$ -insaturado por ventana (umbrella sampling) a lo largo de la rotación del enlace simple resaltado en la figura 4-8 en diferentes ambientes: (a) vacío, (b) usando una representación implícita de la solución acuosa, (c) simulaciones QM/MM con moléculas de agua explícitas a 300 K, (d) simulaciones QM/MM con moléculas de agua explícitas a 360 K.

comparación y que el enfoque de la metodología propuesta está en la aplicación a sistemas condensados representados de forma explícita y sistemas biológicos donde la naturaleza estadística es prioritaria.

En la parte inferior de la Figura 4-11 se muestra la función de Fukui condensada en los mismos dos átomos más reactivos, pero utilizando una descripción explícita de las moléculas de agua en las simulaciones de dinámica molecular QM/MM a 300 K y a 360 K (a la derecha). Esta metodología introduce el efecto electrostático de los enlaces de hidrógeno representados por las cargas atómicas junto con su dinámica para obtener descriptores de reactividad local promedio. Curiosamente, la descripción explícita del entorno acuoso hace que los dos átomos de carbono (beta y carbonílico), dentro del error, sean igualmente propensos a un ataque nucleofílico en los dos conformeros más estables, aumentando la diferencia de reactividad en la región del estado de transición. El método propuesto en este trabajo para obtener descriptores locales promediados por el colectivo permite estudiar el efecto de la temperatura sobre el movimiento de los núcleos atómicos, lo cual repercutirá en fluctuaciones en la densidad electrónica y subsecuente cambio en la reactividad. Al aumentar la temperatura a 360 K la reactividad cambia para diferentes valores del ángulo diedro, haciéndolo más similar al vacío debido a la disminución en la diferencia de los valores (max - min) en la región del estado de transición. Este cambio en la reactividad está directamente relacionado con el mayor número de enlaces de hidrógeno promedio entre el agua y el átomo de oxígeno carbonílico a temperaturas más bajas ( Figura 4-12).

La Figura 4-12 muestra el número de enlaces de hidrógeno entre el solvente y el átomo de oxígeno carbonílico del tioéster en función del ángulo diedro en las simulaciones explícitas de QM/MM a 300 K y 360 K. El número de enlaces H se



**Figura 4-12.:** Número promedio de enlaces de hidrógeno en solvente explícito a  $T= 300$  K (verde) y  $T=360$  K (negro).

calcula como promedio con respecto al número total de conformeros por ventana (400 conformeros por ventana). El número promedio de enlaces de hidrógeno ponderados por Boltzmann se obtiene considerando las probabilidades dadas por WHAM. Para el caso del solvente explícito a 300 K, el valor calculado es 1.6 y a 360 K es 0.98. En el caso del entorno enzimático que se tratará en la próxima sección, el número promedio de enlaces de hidrógeno fue de 0.35.

Se puede concluir que la presencia de enlaces de hidrógeno es el factor clave que modula la reactividad en el sustrato junto con el efecto polarizante del solvente. Mediante una distorsión conformacional, la reactividad de los dos sitios atómicos más reactivos para el ataque nucleofílico en las moléculas puede invertirse siendo más factible en solvente explícito debido a que sus descriptores de reactividad locales son casi iguales.

A modo de comparación se realizaron cálculos de función de Fukui ponderada por la distribución de Boltzmann (BW-AC-FF) para la amida  $\text{Me-N-H}_2$  y el ester  $\text{Me-}$

O-Me (siguiendo la notación de la tabla 4-4) , considerando la conformación de  $180^\circ$  como punto de partida de las simulaciones de dinámica molecular. Las simulaciones se realizaron a  $T = 300$  K, duración de 2 ns, modelo de agua TIP3P. Luego de las mismas se tomaron 2000 estructuras representativas para los respectivos cálculos QM/MM, los cuales son necesarios para la obtención de los respectivos descriptores de reactividad. Los valores de  $\langle f^+ \rangle$  obtenidos (en paréntesis la desviación estándar) para la amida en los carbonos respectivos fueron:  $\beta = 0.269(0.016)$ ,  $\alpha = 0.195(0.019)$ ,  $C(C = O) = 0.171(0.021)$  y para el éster  $\beta = 0.264(0.016)$ ,  $\alpha = 0.184(0.017)$ ,  $C(C = O) = 0.191(0.020)$ . Al comparar con los valores de  $f^+$  de la tabla 4-4 usando solvente implícito se evidencia como el efecto del solvente usando un medio explícito acentúa el cambio en la reactividad, evidenciándose de forma mas marcada en el carbono  $\alpha$  y  $C(C = O)$  tanto del éster como de la amida. Al final al comparar la reactividad en el átomo de carbono  $\beta$ , entre el tioéster, éster y amida en medio acuoso, se observó que las amidas presentaban la mayor reactividad.

### 4.2.3. Activación del sustrato por la enzima Ccr

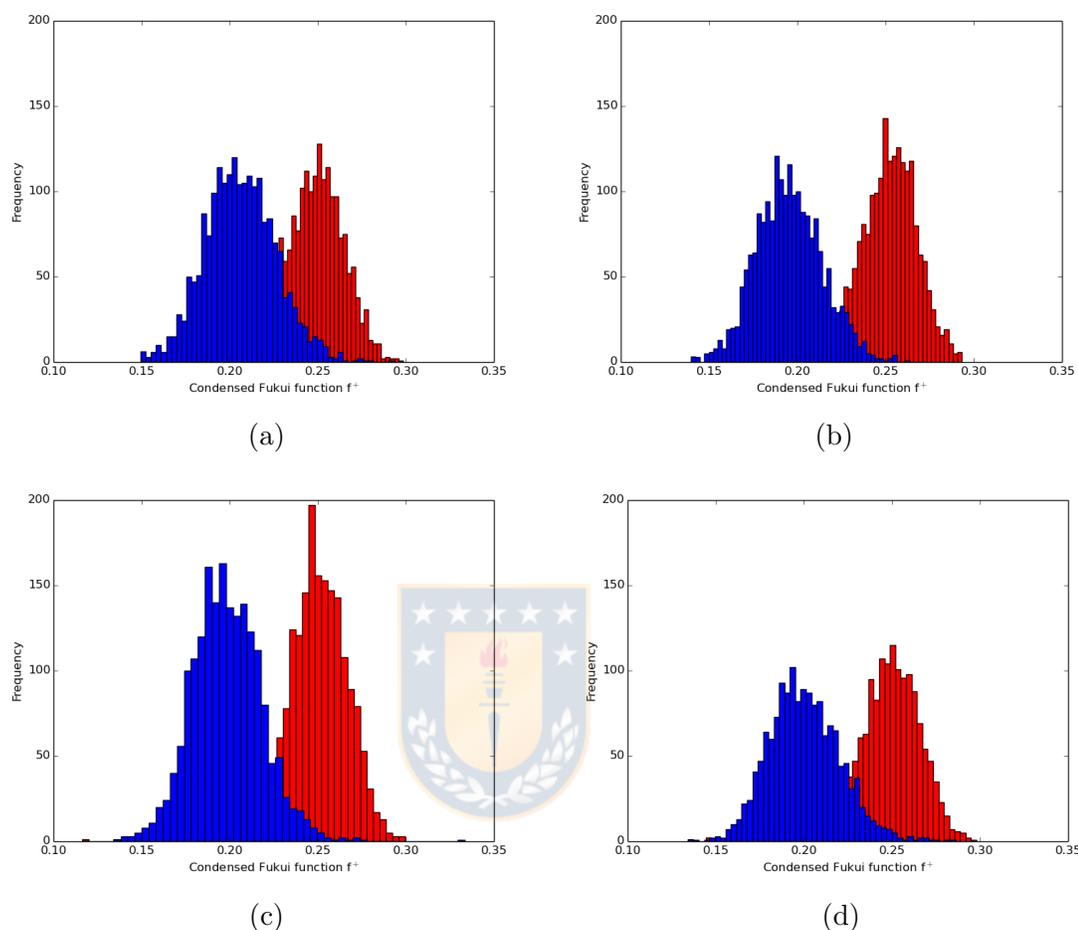
Basados en el análisis de los efectos del ambiente molecular y las variaciones conformacionales, las enzimas que catalizan la reacción como la crotonil-CoA carboxilasa/reductasa (Ccr) tienen diferentes maneras de hacer que el sustrato sea más reactivo en el átomo  $C_\beta$  preferido. Al unirse a la proteína, se podría inducir un cambio conformacional como lo demostró recientemente en otra enzima<sup>96</sup> o podría cambiar el entorno molecular eliminando los enlaces de hidrógeno.

Como primer paso al considerar el entorno enzimático se debe mencionar el trabajo realizado por David Saez, el cual consistió en que al complejo reactivo formado por crotonil-CoA y NADPH, se le modeló dentro de la cavidad activa de Ccr utili-

zando el campo de fuerza CHARMM22, basado en la estructura cristalográfica y el procedimiento de modelado descrito por Stoeffel *et al.*<sup>97</sup>. D. Saez llevó a cabo una equilibración MM del sistema (500 ps NVT, 5 ns NPT, 100 ns NVT), y cuatro estructuras se extrajeron al azar de las últimas 20 ns. Utilizando estas configuraciones como punto de partida, se establecieron cuatro simulaciones QM/MM independientes. La región QM, abarcó la cola tioéster del sustrato y el anillo de nicotinamida del cofactor, los cuales se modelaron con el Hamiltoniano DFTB3. Después de la minimización de la energía, se realizaron cuatro simulaciones de dinámica molecular QM/MM independientes durante un mínimo de 2 ns cada una.

A partir del trabajo mencionado en el párrafo anterior se procedió a tomar estructuras no correlacionadas de las cuatro trayectorias, en total aprox. 7400 estructuras representativas a partir de trayectorias QM/MM de 2 ns cada una. Las cuales se usaron luego en combinación con la interfaz Amber-Terachem, que incluye solo la parte del 2-butenotioato de metilo del sustrato Crotonyl-CoA en la región QM aplicando el formalismo de “link átomo” y un “embedding” electrostático. Los cálculos QM/MM utilizaron un nivel de teoría  $\omega$ B97X/def2-svp para la región QM, así de esta forma se describió de forma cuántica la densidad electrónica de la molécula de estudio.

Solo el  $\alpha,\beta$  metil tioéster insaturado se incluyó en la región QM para calcular la función condensada de Fukui del átomo reactivo  $C_\beta$  y  $C_{C=O}$  con el programa Chemtools.<sup>91</sup> Las fluctuaciones en las funciones de Fukui condensadas obtenidas a partir de las estructuras representativas se pueden apreciar en la Figura 4-13. Al final se procedió a calcular la función de Fukui condensada atómica como promedio ponderado de la distribución de Boltzmann definida en este trabajo gracias al programa computacional diseñado.



**Figura 4-13.:** Histogramas de valores de función de Fukui condensada  $f^+$  del átomo de carbono  $C_\beta$  (rojo) y átomo  $C_{C=O}$  (azul) en la enzima CCr para diferentes conformaciones representativas de la enzima equilibrada: (a) 80 ns, (b) 85 ns, (c) 90 ns, (d) 95 ns.

La tabla 4-7 muestra la función de Fukui condensada a átomo ponderada por la distribución de Boltzmann (en inglés BW-AC-FF) en cuatro ambientes moleculares diferentes tomando en cuenta los cambios conformacionales como se describió anteriormente. Para los ambientes no enzimáticos, se calcularon los valores BW-AC-FF en función de los promedios a lo largo del ángulo diedro aplicando los pesos de Boltzmann por ventana obtenidos del análisis WHAM. En los cuatro entornos, el sitio más propenso a un ataque nucleofílico es el átomo  $C_\beta$ , aunque en las simulaciones que describen al solvente de forma explícita la reactividad del átomo  $C_{C=O}$  se vuelve

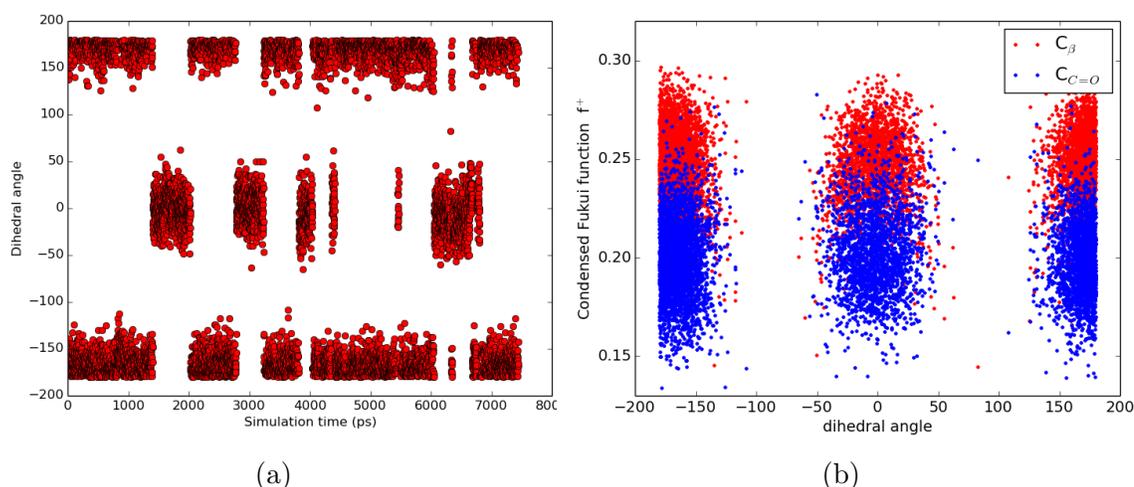
**Tabla 4-7.:** Función de Fukui condensada a átomo ponderada por la distribución de Boltzmann  $\langle f^+ \rangle$  y  $\langle f^- \rangle$  a 300 K ( $\omega$ B97X / def2-svp) de los sitios atómicos más reactivos en metil tioester  $\alpha,\beta$ -insaturado en diferentes ambientes moleculares. (Desviación estándar en paréntesis)

Ataque nucleofílico del anión hidruro desde el NADPH				
Átomo	vacío	solvente implícito	solvente explícito	enzima
$C_\beta$	0.250 (0.016)	0.242 (0.017)	0.234 (0.019)	0.248 (0.017)
$C_{C=O}$	0.195 (0.014)	0.214 (0.015)	0.228 (0.022)	0.200 (0.020)
Ataque electrofílico del $CO_2$				
Átomo	vacío	solvente implícito	solvente explícito	enzima
$C_\alpha$	0.445 (0.062)	–	0.359 (0.033)	0.448 (0.045)
$O(C=O)$	0.161 (0.037)	–	0.145 (0.047)	0.157 (0.049)

casi igual. Al comparar los valores en diferentes ambientes se hace evidente que en la enzima Ccr la reactividad es casi la misma que en el vacío y diferente de la reactividad observada en la solución acuosa, descrita por modelo de solvente implícito o explícito. Esto se acompaña con un número promedio notablemente reducido de enlaces de hidrógeno del átomo de oxígeno carbonílico del sustrato en la enzima (0.35) en comparación con la solución acuosa (1.62). Los enlaces de hidrógeno presentes en la enzima involucran principalmente grupos amino del residuo Asn85 que hemos identificado previamente como residuo clave en el mecanismo catalítico.<sup>97</sup>

No hay un cambio conformacional significativo asociado con el ángulo diedro estudiado para el sustrato en la enzima porque el fragmento de coenzima A del sustrato fija su posición en la cavidad y otros residuos de la enzima (Asn85) junto con NADPH impiden su rotación (ver ángulos diédros y valores de función de Fukui condensados a átomos asociados del sustrato en la cavidad enzimática en la Fig. 4-14).

De este análisis se concluye que la enzima Ccr aumenta la reactividad del sustrato aislandolo efectivamente de la fase acuosa y sus enlaces de hidrógeno característicos, y los residuos circundantes proporcionan un entorno electrostático favorable que incrementa su reactividad. La enzima, por lo tanto, asigna el sitio de reactividad



**Figura 4-14.:** (a) Ángulo diedro ( $C_\beta$ - $C_\alpha$ -C-S) vs. tiempo de simulación (ps) en la enzima CCr. (b) Función de Fukui condensada  $f^+$  vs. Ángulo diedro en el ambiente enzimático.

más favorable dentro del sustrato en el carbono  $\beta$  y aumenta su reactividad en comparación con la solución acuosa. Experimentalmente, se sabe que en la enzima el anión hidruro se transfiere a este átomo antes de la fijación de la molécula  $\text{CO}_2$ .

Después de la formación de las especies de enolato por la transferencia de hidruro de NADPH se produce un ataque electrofílico de  $\text{CO}_2$ . La adición del anión hidruro en el átomo  $C_\beta$  cambia la reactividad del sustrato y el sitio más probable para un ataque electrofílico es el átomo de carbono  $\alpha$  seguido por el átomo de oxígeno carbonílico. Los posibles efectos del medio ambiente sobre la reactividad de esta especie se abordaron calculando la función Fukui condensada a átomos  $f^-$  como un promedio ponderado por la distribución de Boltzmann a partir de simulaciones de dinámica molecular en la enzima, en solución acuosa y en el vacío discutido anteriormente. La simulación en la solución acuosa sirve como comparación para la reactividad en la enzima y no tiene verificación experimental ya que las especies de enolato reaccionarían instantáneamente con el solvente.

En la Tabla 4-7 se muestra la función de Fukui condensada a átomos ponderada

por la distribución de Boltzmann para el ataque electrofílico  $\langle f^- \rangle$  de los sitios más reactivos en el sustrato. El entorno enzimático presenta un descriptor de reactividad similar al observado en el vacío y diferente de la solución acuosa, especialmente en el átomo de carbono  $\alpha$  más reactivo. Por lo tanto, también para el segundo paso asociado con la carboxilación del enolato, la enzima proporciona un entorno molecular adecuado, aumentando la reactividad en el sitio más reactivo en comparación con la solución acuosa.

#### 4.2.4. Resumen de la segunda sección de resultados

Se propone una metodología que toma en cuenta de los cambios en la reactividad en átomos específicos en moléculas inducidas por transiciones conformacionales o efectos polarizantes del entorno molecular. Los índices de función de Fukui condensados en átomos ponderados por la distribución de Boltzmann (BW-AC-FF) se usaron para analizar los cambios de reactividad en una transición conformacional del sustrato de la enzima CCr, considerando una descripción explícita de las moléculas de agua circundantes y el entorno enzimático y también utilizando sistemas de comparación como vacío y bajo modelo de solvente implícito. La rotación de un enlace simple en el tioéster  $\alpha,\beta$ -insaturado aumenta la reactividad en el átomo de carbono carbonílico, disminuyendo a su vez la del átomo de carbono  $\beta$  en todos los ambientes moleculares. En principio, las enzimas pueden alterar la reactividad de sus sustratos de la solución acuosa mediante la desestabilización conformacional en estado reactivo y la metodología presentada representa una herramienta valiosa para abordar estos efectos en el futuro.

Los enlaces de hidrógeno entre el tioéster  $\alpha,\beta$ -insaturado y el solvente modulan la reactividad de sus dos sitios más reactivos (el carbono  $\beta$  y el carbono carboníli-

co). Para abordar el efecto de los enlaces de hidrógeno en la reactividad, se utilizaron simulaciones QM/MM que explican los cambios conformacionales del sustrato y el efecto de las moléculas de agua circundantes o la enzima. De las simulaciones QM/MM se obtienen los descriptores de reactividad BW-AC-FF adecuados para analizar la reactividad en sistemas condensados y biológicos.

En su aplicación sobre la enzima Ccr, se observó una mayor reactividad del sustrato mediante la desolvatación, eliminando los enlaces de hidrógeno con las moléculas de agua. La cavidad catalítica de la enzima aísla el sustrato y aumenta su reactividad en el átomo de carbono  $\beta$  para la transferencia de hidruro observada experimentalmente desde NADPH. Además, la fijación posterior de CO<sub>2</sub> también se ve facilitada por una mayor reactividad de las especies de enolato como lo demuestra el BW-AC-FF en el átomo de carbono  $\alpha$ .

En resumen, la metodología presentada proporciona un nuevo enfoque para estudiar los descriptores de reactividad locales en fases condensadas y sistemas biológicos como enzimas, considerando el descriptor BW-AC-FF como una cantidad macroscópica termodinámica,

## 5. Conclusión

En este trabajo se evidenció que la reactividad química para sistemas  $\alpha, \beta$ -insaturados fue descrita de mejor manera con descriptores de reactividad locales, los cuales correlacionaron mejor con datos experimentales. Gracias al estudio de validación desarrollado en compuestos  $\alpha, \beta$ -insaturados, los cuales poseen más de un sitio reactivo, se pudo concluir que en estos casos los descriptores de reactividad globales no representan la reactividad de forma correcta. Del mismo estudio se pudo concluir que para moléculas similares estructuralmente y con similar número de electrones, los descriptores locales pueden ser usados para comparar reactividades entre dichas moléculas.

La función de Fukui  $f^+(\mathbf{r})$  condensada atómica calculada por la aproximación de fragmento de respuesta molecular (FMR) identificó correctamente el átomo  $C_\beta$  como el sitio más reactivo y el valor en este átomo correlacionó con el orden de reactividad experimental correctamente para cetonas  $\alpha, \beta$ -insaturadas del grupo de validación. Este mismo descriptor localizó correctamente el sitio más reactivo en el átomo de carbono  $\beta$  para ésteres y amidas  $\alpha, \beta$ -insaturados, que son sustratos alternativos para la fijación de  $\text{CO}_2$  por parte de la crotonil-CoA-carboxilasas.

Se identificaron a las amidas como las moléculas más propensas al ataque nucleofílico por el anión hidruro. En cuanto a la reacción de carboxilación el descriptor  $f^-(\mathbf{r})$  condensado identificó correctamente el carbono  $\alpha$  como más reactivo e identificó los ésteres y las amidas como los más reactivos. De esta forma se podrían proponer estos

mismos compuestos como sustratos alternativos mas reactivos para la enzima.

También se propuso, implementó y validó una metodología basada en la mecánica cuántica y mecánica estadística que considera el sistema de estudio como un colectivo, lo cual permite una mejor comparación con datos experimentales y con lo cual se pueden considerar variables a nivel macroscópico como temperatura, etc. En la misma metodología se definen las funciones de Fukui condensadas atómicas como promedios ponderados por la distribución de Boltzmann con siglas en ingles **BW-AC-FF** (Boltzmann Weighted Atom Condensed Fukui Function). Esta metodología toma en cuenta los cambios en la reactividad en átomos específicos de la molécula de estudio, inducidos por transiciones conformacionales o por el efecto polarizante del entorno molecular. Dicha metodología se aplicó para el análisis de la reactividad del sustrato en la enzima CCr y se pudo comparar con la reactividad en medio acuoso. Al final se pudo concluir que la enzima aumenta la reactividad del sustrato mediante desolvatación, eliminando los enlaces de hidrógeno con las moléculas de agua. La cavidad catalítica de la enzima aísla el sustrato y aumenta su reactividad en el átomo de carbono  $\beta$  para la etapa de reducción. La carboxilación también se ve facilitada por una mayor reactividad de las especies de enolato como lo demuestra el BW-AC-FF en el átomo de carbono  $\alpha$ .

Como perspectiva a futuro se podría realizar el estudio de la reactividad química con la nueva metodología desarrollada en este trabajo a lo largo de la reacción química, en las diferentes etapas de la misma. A su vez se podría estudiar la influencia de variables como temperatura, volumen, efecto de diferentes tipos de solventes (en su forma explícita) en la reactividad química. También se podría analizar la reactividad en esterés y amidas considerando el entorno enzimático para así proponerlos como sustratos alternativos en la catálisis enzimática. De forma complementaria sería de

gran utilidad la interacción con grupos experimentales que se dediquen al estudio de la cinética de reacción en ambientes enzimáticos y en general en el estudio de reacciones químicas en solución, para de esta forma validar la diferencia en reactividad encontrada en los distintos sustratos.



# Bibliografía

- [1] Parr, R. G.; Yang, W. *Density-Functional Theory of Atoms and Molecules*; Oxford University Press: New York, 1989.
- [2] Ayers, P. W.; Yang, W. *in Density Functional Theory*; P. Bultinck, H. de Winter, W. Langenaeker and J. P. Tollenaere Dekker: New York, 2003.
- [3] Geerlings, P.; Proft, F. D.; Langenaeker, W. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 1793.
- [4] Chermette, H. *J. Comp. Chem.* **1999**, *20*, 129.
- [5] Ayers, P. W.; Anderson, J. S. M.; Bartolotti, L. J. *Int. J. Quantum Chem.* **2005**, *101*, 520.
- [6] Parr, R. G.; Yang, W. T. *Annu. Rev. Phys. Chem.* **1995**, *46*, 701.
- [7] Sanderson, R. T. *Chemical Bonds and Bond Energy*; 2nd ed. Academic: New York, 1976.
- [8] Parr, R. G.; Donnelly, R. A.; Levy, M.; Palke, W. E. *J. Chem. Phys.* **1978**, *68*, 3801.
- [9] Parr, R. G.; Bartolotti, L. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 3801.
- [10] Pearson, R. G. *Science* **1966**, *151*, 172.

- [11] Pearson, R. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 3533.
- [12] Chattaraj, P. K.; Lee, H.; Parr, R. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 1855.
- [13] Ayers, P. W. *Faraday Discuss.* **2007**, *135*, 161.
- [14] Ayers, P. W.; Parr, R. G.; Pearson, R. G. *J. Chem. Phys.* **2006**, *124*, 1941.
- [15] Ayers, P. W. *J. Chem. Phys.* **2005**, *122*, 141102.
- [16] Chattaraj, P. K.; Ayers, P. W. *J. Chem. Phys.* **2005**, *123*, 086101.
- [17] Pearson, R. G. *J. Chem. Educ.* **1987**, *64*, 561.
- [18] Pearson, R. G. *J. Chem. Educ.* **1999**, *76*, 267.
- [19] Parr, R. G.; Chattaraj, P. K. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 1854.
- [20] Ayers, P. W.; Parr, R. G. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 2010.
- [21] Torrent-Sucarrat, M.; Luis, J. M.; Duran, M.; Sola, M. *J. Chem. Phys.* **2004**, *120*, 10914.
- [22] Torrent-Sucarrat, M.; Luis, J. M.; Duran, M.; Sola, M. *J. Chem. Phys.* **2002**, *117*, 10561.
- [23] Torrent-Sucarrat, M.; Luis, J. M.; Duran, M.; Sola, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 7951.
- [24] Parr, R. G.; Yang, W. T. *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 4049.
- [25] Perdew, J.; Parr, R. G.; Levy, M.; Balduz., J. L. *Phys. Rev. Lett.* **1982**, *49*, 1691.
- [26] Yang, W. T.; Zhang, Y. K.; Ayers, P. W. *Phys. Rev. Lett.* **2000**, *84*, 5172.

- [27] Ayers, P. W. *J. Math. Chem.* **2008**, *43*, 285.
- [28] Hirshfeld, F. L. *Theor. Chim. Acta* **1977**, *44*, 129.
- [29] Field, M. J.; Bash, P. A.; Karplus, M. *Journal of Computational Chemistry* **1990**, *11*, 700–733.
- [30] Erb, T. J.; Brecht, V.; Fuchs, G.; Muller, M.; Alber, B. E. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2009**, *106*, 8871.
- [31] Peter, D. M.; von Borzyskowski, L. S.; Kiefer, P.; Christen, P.; Vorholt, J. A.; Erb, T. J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 13457.
- [32] Rosenthal, R. G.; Ebert, M.; Kiefer, P.; Peter, D. M.; Vorholt, J. A.; Erb, T. J. *Nat. Chem. Bio.* **2014**, *10*, 50.
- [33] Rosenthal, R. G.; Vögeli, B.; Quade, N.; Capitani, G.; Kiefer, P.; Vorholt, J. A.; Ebert, M.; Erb, T. J. *Nat. Chem. Bio.* **2015**, *11*, 398.
- [34] Erb, T. J. *Appl. Environ. Microbiol.* **2011**, *77*, 8466.
- [35] Mendoza-Huizar, L. H.; Rios-Reyes, C. H. 6.
- [36] Zheng, X.; Zeng, J.; Xiong, M.; Huang, J.; Li, C.; Zhou, R.; Xiao, D. *Asian Journal of Organic Chemistry* **2019**, ajoc.201900413.
- [37] Berger, G. *Computational and Theoretical Chemistry* **2013**, *1010*, 11–18.
- [38] Domingo, L.; Ríos-Gutiérrez, M.; Pérez, P. *Molecules* **2016**, *21*, 748.
- [39] Oller, J.; Pérez, P.; Ayers, P. W.; Vöhringer-Martinez, E. *Int. J. Quantum. Chem.* **2018**, *118*, e25706.

- [40] Faver, J.; Merz, K. M. *J. Chem. Theory Comput.* **2010**, *6*, 548–559.
- [41] Roos, G.; Geerlings, P.; Messens, J. *J. Phys. Chem. B* **2009**, *113*, 13465–13475.
- [42] Maynard, A. T.; Huang, M.; Rice, W. G.; Covell, D. G. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1998**, *95*, 11578–11583.
- [43] Roos, G.; Loverix, S.; Brosens, E.; Van Belle, K.; Wyns, L.; Geerlings, P.; Messens, J. *ChemBioChem* **2006**, *7*, 981–989.
- [44] Roos, G.; Loverix, S.; De Proft, F.; Wyns, L.; Geerlings, P. *J. Phys. Chem. A* **2003**, *107*, 6828–6836.
- [45] Fuentealba, P.; Perez, P.; Contreras, R. *J. Chem. Phys.* **2000**, *113*, 2544.
- [46] Fuentealba, P.; Cedillo, A. *J. Chem. Phys.* **1999**, *110*, 9807–9811.
- [47] Pérez, P.; Toro-Labbé, A.; Contreras, R. *Journal of the American Chemical Society* **2001**, *123*, 5527–5531.
- [48] Padmanabhan, J.; Parthasarathi, R.; Subramanian, V.; Chattaraj, P. K. *J. Phys. Chem. A* **2006**, *110*, 2739–2745.
- [49] Padmanabhan, J.; Parthasarathi, R.; Sarkar, U.; Subramanian, V.; Chattaraj, P. *Chem. Phys. Lett.* **2004**, *383*, 122–128.
- [50] Parthasarathi, R.; Elango, M.; Subramanian, V.; Chattaraj, P. K. *Theor. Chem. Acc.* **2005**, *113*, 257–266.
- [51] Liu, S. *J. Chem. Sci.* **2005**, *117*, 477–483.
- [52] Zhong, A.; Rong, C.; Liu, S. *J. Phys. Chem. A* **2007**, *111*, 3132–3136.

- [53] Jaramillo, P.; Pérez, P.; Fuentealba, P.; Canuto, S.; Coutinho, K. *J. Phys. Chem. B* **2009**, *113*, 4314–4322.
- [54] Safi, B.; Balawender, R.; Geerlings, P. *J. Phys. Chem. A* **2001**, *105*, 11102–11109.
- [55] Heidar-Zadeh, F.; Miranda-Quintana, R. A.; Verstraelen, T.; Bultinck, P.; Ayers., P. W. *J. Chem. Theory. Comput.* **2016**, *12*, 5777.
- [56] Fuentealba, P.; Cardenas, C. *J. Mol. Model.* **2013**, *19*, 2849.
- [57] Koopman's, T. A. *Physica* **1933**, *1*, 104.
- [58] Janak, J. F. *Phys. Rev. B* **1978**, *18*, 7165.
- [59] Ayers, P. W.; Morrison, R. C.; Parr, R. G. *Mol. Phys.* **2005**, *103*, 2061.
- [60] Parr, R.; L.Szentpaly,; Liu., S. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 1922.
- [61] Contreras, R.; Andres, J.; Safont, V. S.; Campodonico, P.; Santos., J. G. *J. Phys. Chem. A* **2003**, *107*, 5588.
- [62] Yang, W. T.; Parr, R. G.; Pucci, R. *J. Chem. Phys.* **1984**, *81*, 2862.
- [63] Heidar-Zadeh, F.; Fias, S.; Vohringer-Martinez, E.; Verstraelen, T.; Ayers., P. W. *Theor. Chem. Acc.* **2017**, *136*, 19.
- [64] Fuentealba, P.; Parr, R. G. *J. Chem. Phys.* **1991**, *94*, 5559.
- [65] Morell, C.; Grand, A.; Toro-Labbé, A. *J. Phys. Chem. A* **2005**, *109*, 205.
- [66] Morell, C.; Grand, A.; Toro-Labbé, A. *Chem. Phys. Lett.* **2006**, *425*, 342.

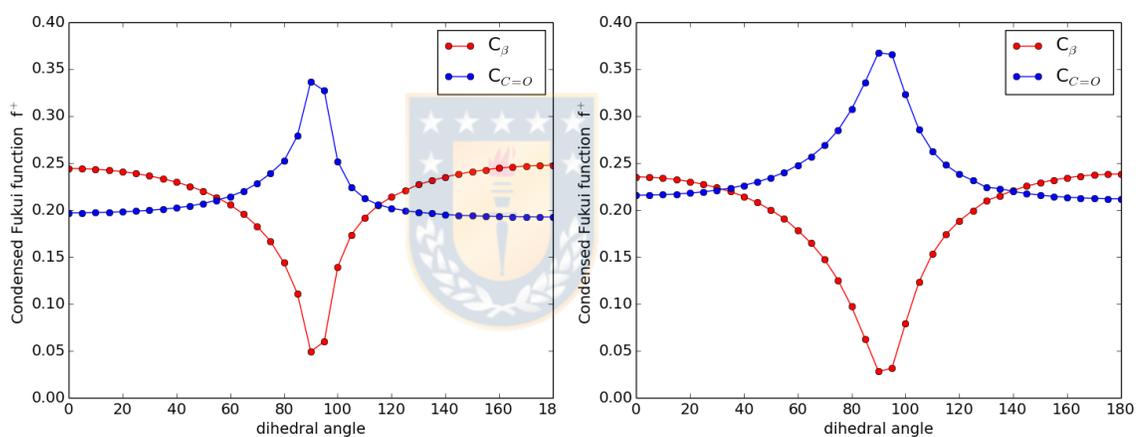
- [67] Ayers, P. W.; Morell, C.; Proft, F. D.; Geerlings, P. *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 8240.
- [68] Bultinck, P.; Fias, S.; Alsenoy, C. V.; Ayers, P. W.; Carbó-Dorca, J. *Chem. Phys.* **2007**, *127*, 034102.
- [69] Yang, W. T.; Mortier, W. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 5708.
- [70] Ayers, P. W.; Morrison, R. C.; Roy, R. K. *J. Chem. Phys.* **2002**, *116*, 8731.
- [71] Bulat, F. A.; Chamorro, E.; Fuentealba, P.; Toro-Labbé, A. *J. Phys. Chem. A* **2004**, *108*, 342.
- [72] Anderson, J. S. M.; Ayers, P. W. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2007**, *9*, 2371.
- [73] Roy, R. K.; Krishnamurti, S.; Geerlings, P.; Pal, S. *J. Phys. Chem. A* **1998**, *102*, 3746.
- [74] Torrent-Sucarrat, M.; Proft, F. D.; Ayers, P.; Geerlings, P. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2010**, *12*, 1072.
- [75] Löwdin, P.-O. *International Journal of Quantum Chemistry* **1995**, *55*, 77–102.
- [76] Hohenberg, P.; Kohn, W. *Phys. Rev.* **1964**, *136*, B864.
- [77] Slater, J. C. *Physical Review* **1951**, *81*, 385–390.
- [78] Becke, A. D. *Physical Review A* **1988**, *38*, 3098–3100.
- [79] Lee, C.; Yang, W.; Parr, R. G. *Physical Review B* **1988**, *37*, 785–789.
- [80] Becke, A. D. *The Journal of Chemical Physics* **1993**, *98*, 1372–1377.
- [81] Verlet, L. *Phys. Rev.* **1967**, *159*, 98–103.

- [82] Gunsteren, W. F. V.; Berendsen, H. J. C. *Molecular Simulation* **1988**, *1*, 173–185.
- [83] Kästner, J. *Wiley Interdiscip. Rev. Comput. Mol. Sci.* **2011**, *1*, 932–942.
- [84] Kumar, S.; Rosenberg, J. M.; Bouzida, D.; Swendsen, R. H.; Kollman, P. A. *J. Comput. Chem.* **1992**, *13*, 1011–1021.
- [85] Oller, J.; Sáez, D.; Vöhringer-Martinez, E. *ChemRxiv* **2019**, <https://doi.org/10.26434/chemrxiv.9198770.v2>.
- [86] Neese, F. *Rev. Comput. Mol. Sci.* **2011**, *2*, 73.
- [87] Gaus, M.; Cui, Q.; Elstner, M. *J. Chem. Theory Comput.* **2011**, *7*, 931–948.
- [88] Case, D. A. et al. 2016; Amber 2016; University of California: San Francisco.
- [89] Ufimtsev, I. S.; Martinez, T. J. *J. Chem. Theory Comput.* **2009**, *5*, 2619–2628.
- [90] *HORTON 2.0.0*, <http://theochem.github.io/horton/index.html>
- [91] Heidar-Zadeh, F.; Richer, M.; Fias, S.; Miranda-Quintana, R. A.; Chan, M.; Franco-Pérez, M.; González-Espinoza, C. E.; Kim, T. D.; Lanssens, C.; Patel, A. H.; Yang, X. D.; Vöhringer-Martinez, E.; Cárdenas, C.; Verstraelen, T.; Ayers, P. W. *Chem. Phys. Lett.* **2016**, *660*, 307–312.
- [92] Schwobel, J.; Wondrousch, D.; Koleva, Y. K.; Madden, J. C.; Cronin, M.; Schuurmann, G. *Chem. Res. Toxicol.* **2010**, *23*, 1576.
- [93] Marenich, A.; c. Cramer,; Truhlar, D. *J. Phys. Chem. B* **2009**, *113*, 6378.
- [94] Bultinck, P.; Alsenoy, C. V.; Ayers, P. W.; Carbó-Dorca, J. *Chem. Phys.* **2007**, *126*, 144111.

- [95] Jorgensen, W. L.; Chandrasekhar, J.; Madura, J. D.; Impey, R. W.; Klein, M. L. *J. Chem. Phys.* **1983**, *79*, 926–935.
- [96] Vöhringer-Martinez, E.; Dörner, C. *J. Phys. Chem. B* **2016**, *120*, 12444–12453.
- [97] Stoffel, G. M. M.; Saez, D. A.; DeMirici, H.; Vögeli, B.; Rao, Y.; Zarzycki, J.; Yoshikuni, Y.; Wakatsuki, S.; Vöhringer-Martinez, E.; Erb, T. J. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2019**, 201901471.



## A. Anexo: Función de Fukui condensada atómica $f^+$ en vacío y solvente implícito como sistemas de comparación



**Figura A-1.:** Función de Fukui condensada a átomo  $f^+$  calculada desde estructuras optimizadas a lo largo de la rotación del diedro principal descrito con anterioridad en vacío y solvente implícito como sistemas de comparación.